BAND 35, HEFT 1 MÄRZ 1959

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. Schaffnit

Unter Mitwirkung von

Prof. Dr. E. Baldacci, Mailand / Prof. Dr. H. Braun, Bonn / Prof. Dr. W. B. Brierley, Keswick-Cumberland / Prof. Dr. T. Hemmi, Kyoto / Prof. Dr. N. Hiratsuka, Tokyo
Oberreg.-Rat i. R. Dr. E. Köhler, Braunschweig / Prof. Dr. K. O. Müller, Heidelberg
Prof. Dr. H. M. Quanjer, Wageningen / Prof. Dr. T. S. Sadasivan, Madras
Prof. Dr. Tr. Savulescu, Bukarest / Prof. Dr. K. Silberschmidt, São Paulo
Prof. Dr. E. C. Stakman, St. Paul

herausgegeben von den Professoren

E. Gäumann Zürich
M. Klinkowski Aschersleben
H. Richter Berlin-Dahlem

Mit 46 Abbildungen

1959
PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG

Phytopath. Z. Ba. 35 Heft 1, S. 1—104 Berlin 1959

Postverlagsort Berlin

NSP
RAN
MN

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL
6 APR 1959

INHALT

Abhandlungen

Zogg, H., Beitrag zur Kenntnis der Lebensdauer von Zwergbrandsporen im Boden (*Tilletia controversa* Kühn). Mit 7 Abb. 1

Király, Z., On the Role of Phenoloxidase Activity in the Hypersensitive Reaction of Wheat Varieties Infected with Stem Rust 23

Gremmen, J., Über zwei Phacidiaceae von *Pinus silvestris* L. Mit einer Abbildung .. 27

Hoffmann, G. M., Untersuchungen über die Anthraknose des Hanfes (*Cannabis sativa* L.). Mit 21 Abb. 31

Hubbes, M., Untersuchungen über *Dothichiza populea* Sacc. et Briard, den Erreger des Rindenbrandes der Pappel. Mit 17 Abb. 58

Kurze Mitteilungen

Ross, H., Über die Verbreitung der Tabakrippenbräunestämme des Y-Virus der Kartoffel (*Marmor upsilon* Holmes var. *costaenecans* Klinkowski u. Schmelzer) in Deutschland und anderen Ländern 97

Heinze, K., Neue Überträger für das Enationen-Virus der Erbse (pea enation mosaic) und einige andere Virosen 103

Manuskripte: In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.

„Kurze Mitteilungen" sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.

Die „Besprechungen" erscheinen nur in deutscher Sprache.

Herausgeber: Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstraße 2, Prof. Dr. M. Klinkowski, Aschersleben, Ermslebener Str. 52, und Prof. Dr. H. Richter, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 19.

Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen" entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 61, Lindenstraße 44/47, oder an einen der drei Herausgeber.

Zusendung der „Besprechungen" unmittelbar an Prof. Richter, Berlin-Dahlem. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. Richter vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

Honorierung: Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen" beträgt 32,— DM je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die ersten drei Bogen honoriert; Dissertationen und Buchbesprechungen sind honorarfrei.

Sonderdrucke: Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 30 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen). Mehrbedarf gegen Berechnung.

Erscheinungsweise: Die Zeitschrift erscheint in zwangloser Folge. Jährlich erscheinen etwa 10—12 Hefte, von denen 4 einen Band bilden. Jeder Band enthält etwa 30 Druckbogen.

Bezugsbedingungen: Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 3,50 DM. Die Hefte sind auch einzeln käuflich. Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzen Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht spätestens unverzüglich nach Eingang der letzten Lieferung des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.

Abonnementspreis dieses Heftes 24,60 DM Einzelpreis 27,— DM

Aus der Eidgenössischen Landwirtschaftlichen Versuchsanstalt
Zürich-Oerlikon
Vorstand: Dr. R. Salzmann

Beitrag zur Kenntnis der Lebensdauer von Zwergbrandsporen im Boden (*Tilletia controversa* Kühn)

Von

H. Zogg

Mit 7 Abbildungen

A. Einleitung und Problemstellung

Die Frage, wie lange die Sporen des Zwergbrandes (*Tilletia controversa* Kühn) im Boden lebensfähig bleiben können, steht in engster Beziehung mit dessen Auftreten in der Praxis. In dieser Richtung sind anscheinend bis heute noch keine Untersuchungsergebnisse publiziert worden.

In der Schweiz ist der Befall bekanntlich besonders auf hohe Lagen beschränkt (Zogg u. Kobel 1954) und hat besonders in den Jahren (erstes Auftreten gemeldet 1951) 1952 bis 1954 in bestimmten, gut umgrenzten Gebieten beängstigende Ausmaße angenommen. Während der Jahre 1955 bis 1957 sank jedoch der Befall (wie es übrigens auch z. B. in Deutschland und Österreich beobachtet werden konnte) auf ein Minimum zurück. Im Jahre 1958 dagegen nahm der Befall wieder zu. Diese Schwankungen im epidemischen Auftreten des Zwergbrandes, die wir ja auch von anderen Pflanzenkrankheiten her sehr gut kennen, sind aber wahrscheinlich nicht nur auf Umweltbedingungen zurückzuführen. Die Verschleppungsmöglichkeiten, der Einfluß von infizierten Nebenwirten, die Überdauerung von Zwergbrandsporen im Boden usw. stellen wichtige Ursachen für das epidemische Auftreten der Krankheit dar.

Holton und Mitarbeiter (1949) nehmen auf Grund von Feldbeobachtungen an, daß sich die Sporen des Zwergbrandes mehr als zwei Jahre, sogar bis zehn Jahre im Boden lebensfähig erhalten können. Später berichtet Tyler (1953), daß Zwergbrandsporen aus Brandbutten, die in speziellen Behältern auf der Bodenoberfläche im Freiland aufbewahrt wurden, z. T. noch nach

fünf Jahren keimfähig sind. Angaben über das Verhalten von Zwergbrandsporen im Boden in Kontakt mit der Bodenmikroflora und -fauna sind unseres Wissens bis heute nicht veröffentlicht worden.

Die vorliegenden Untersuchungen beziehen sich hauptsächlich auf die Dauer der Lebensfähigkeit von Zwergbrandsporen im Boden und die Einwirkung von Beizmitteln. In einem letzten Kapitel wird kurz auf einige Möglichkeiten der Übertragung des Zwergbrandes eingegangen, als Beitrag zur Klärung des epidemischen Auftretens dieser Krankheit.

B. Versuchsmethoden

Für die Ausarbeitung der Versuchsmethoden galt das Prinzip, die Sporen im Boden in engen Kontakt mit dem Edaphon, nachher zur Keimkontrolle möglichst vollzählig aus der Erde heraus und auf die Oberfläche der zur Keimprüfung verwendeten, Erde enthaltenden Petrischalen zu bringen. Für die Feldversuche kamen quadratische Stücke von dicht gewobenem Nylontuch (Seitenlänge etwa 10 cm) zur Verwendung; sie wurden in ausgehobene Gräben des freien Bodens flach ausgelegt (Grabentiefe 5, 15 bzw. 25 cm). Die Brandbutten wurden im Mörser zerschlagen, die Sporen abgesiebt, zum Teil mit Beizmitteln im Gewichtsverhältnis 1 : 1 vermischt, in einer höchstens 1 mm dicken Schicht mit einem Durchmesser von etwa 6 cm auf die Tuchstücke gebracht, mit einer Schicht feiner Erde des Aushubes zugedeckt, anschließend mit dem Rest des Aushubes die Gräben wieder aufgefüllt, und die Lage der einzelnen Nylongewebe im Boden mit Holzetiketten markiert. Die Ausgrabung der Nylontuchstücke samt Sporen erfolgte zu verschiedenen Zeiten (14 Tage bis 3 Jahre nach Anlegen der Versuche), und zwar so, daß die über dem Gewebe stehende Erdsäule zuerst auf etwa 3 cm Höhe abgetragen, das Gewebe samt der noch verbleibenden Erdsäule sorgfältig ausgehoben und die Erdsäule auf etwa 1 cm weiter abgetragen wurde. Die Unterseite des Tuchstückes kam auf eine Glasplatte zu liegen; der Bodenteil einer Petrischale wurde auf die Erdschicht gedrückt, das Ganze umgewendet, die Glasplatte abgenommen und die Sporen mit dem sie noch bedeckenden Nylongewebe leicht auf die nun darunterliegende Erde angedrückt. Die Schalen wurden anschließend unter Dauerbeleuchtung bei 3 bis 5 °C aufbewahrt und die „Keimung" der Sporen kontrolliert. Die Kontrollschalen mit den trocken im Laboratorium aufbewahrten Sporen derselben Provenienz wurden mit derselben Erde beschickt. Für die Versuche im Kühlschrank (dunkles Tiefkühlfach) wurde die Methode leicht abgeändert, indem in die Petrischalen zuerst eine Schicht Erde, darauf ein Stück Nylongewebe und schließlich nochmals eine Schicht Erde kam. Für die Prüfung der „Keimung" der Zwergbrandsporen konnte einfach das Nylontuch samt der darüberliegenden Erde abgehoben und so die Sporen freigelegt werden. Die Methode für die Topfversuche im Gewächshaus war ungefähr dieselbe wie die für das Freiland be-

schriebene. Es zeigte sich, daß nach diesen Methoden die Sporen praktisch in der ursprünglichen Menge wieder ausgegraben werden können. Ein Verlust durch Sickerwasser z. B. war auch in Freilandversuchen nicht festzustellen (vgl. Abschnitt D V).

Die Feststellung der „Keimung" der Zwergbrandsporen, d. h. der Bildung von Promyzel und Sporidien, erfolgte nach der üblichen Schätzungsmethode (z. B. GASSNER und NIEMANN 1954) mit einer Einteilung in Stufen von 0 bis 5 (Vergrößerung 32 ×, Auflicht):

5: Höchste Keimung (entspricht der Keimzahl 4 von GASSNER und NIEMANN 1954): Promyzelien und Sporidien makroskopisch einen weißen, dichten Filz bildend; zwischen den Sporidien unter Lupenbetrachtung praktisch keine Sporen mehr zu erkennen.

4 bis 1 (+ Zwischenstufen): Lineare Abnahme der Keimung.

0,5: Noch etwa zwei bis zehn gekeimte Sporen im Gesichtsfeld.

Spuren: Vereinzelte gekeimte Sporen auf der ganzen Petrischale.

0: Keine gekeimten Sporen.

Die Stufen 0 bis 5 werden in der vorliegenden Arbeit in Keimindizes von 0 bis 100 % angegeben, wobei aber zu beachten ist, daß ein Keimindex von 100 % (= Keimzahl 5) nicht einer effektiven Keimung von 100 % entspricht. „Sp." bedeutet Spuren einer Keimung wie oben angegeben. Sämtliche Versuche wurden in 4- bis 5facher Wiederholung durchgeführt.

Die Freilandversuche wurden im natürlichen Zwergbrandgebiet angelegt, nämlich im Kanton Aargau, auf dem Homberg (760 m ü. M.). Für diese Versuche wurde ein Stück einer Naturwiese gepflügt, eingezäunt und im folgenden möglichst frei von Unkraut gehalten, was allerdings nicht immer durchführbar war.

Für die Überlassung der Versuchsparzelle während einer Reihe von Jahren sei der Familie M. HÄRRY der beste Dank ausgesprochen, ebenso meinen beiden Mitarbeiterinnen Fräulein S. GIGER und E. MÜLHAUPT für die Betreuung der Versuche.

C. Ergebnisse

Es würde zu weit führen, sämtliche Resultate der Versuche A bis E in extenso zu publizieren. Das Gewicht wird vor allem auf das Einsetzen der ersten Keimung und die höchste erreichte Keimzahl (Keimindizes) gelegt, während in der Diskussion der Ergebnisse noch zusätzlich einige Einzelheiten zur Sprache kommen.

Versuch A: Freiland (Homberg); Zwergbrandsporen 5 bzw. 25 cm tief vergraben; Sporen zum Teil ohne Zusatz, zum Teil mit Zusatz von Beizpräparat auf Quecksilberbasis (Alkoxyalkylquecksilberverbindung), zum Teil mit Zusatz von Beizpräparat auf Hexachlorbenzol + Kupfer-Basis (1 Gewichtsteil Sporenpulver + 1 Gewichtsteil Beizpräparat); Kontrolle: Sporen gleicher Provenienz trocken im Laboratorium aufbewahrt und zu gleichen Zeiten auf derselben Erde (Homberg) zum Keimen angesetzt.

Sporen in Erde vergraben: 24. 8. 55;

Sporen zum Keimen angesetzt:	6. 9. 55;	wöchentliche Keimkontrollen bis	27. 10. 55
„ „ „ „ :	21. 9. 55;	„ „ „	27. 10. 55
„ „ „ „ :	25. 4. 56;	„ „ „	28. 6. 56
„ „ „ „ :	31. 7. 56;	„ „ „	5. 9. 56
„ „ „ „ :	24. 10. 56;	„ „ „	5. 12. 56
„ „ „ „ :	15. 3. 57;	„ „ „	6. 6. 57
„ „ „ „ :	30. 7. 57;	„ „ „	6. 9. 57
„ „ „ „ :	18. 10. 57;	„ „ „	10. 12. 57
„ „ „ „ :	23. 10. 58;	„ „ „	15. 12. 58

Der Versuch wird weiter fortgeführt.

Tabelle 1

Resultate aus Versuch A

Höchster Keimindex für trocken aufbewahrte Sporen: 92—100 %
(bis zum Abschluß des Versuches)

Aufbewahrungsdauer im Boden	Behandlung der Sporen	Einsetzen der ersten Keimung im Vergleich zu trocken aufbewahrten Sporen		Höchster Keimindex %	
		5 cm tief	25 cm tief	5 cm tief	25 cm tief
2 Wochen	unbehandelt	ca. 1 Woche früher	ca. 1 Woche früher	92	92
	Hg-Präparat	—	—	0	0
	HCB + Cu-Präparat	—	—	0	0
1 Monat	unbehandelt	ca. 1 Woche früher	ca. 1 Woche früher	96	100
	Hg-Präparat	—	—	0	0
	HCB + Cu-Präparat	—	—	0	0
8 Monate	unbehandelt	—	—	0	Sp.
	Hg-Präparat	—	—	0	0
	HCB + Cu-Präparat	—	—	0	0
11 Monate	unbehandelt	ca. 1 Woche früher	ca. 1 Woche früher	10	50
	Hg-Präparat	—	—	0	0
	HCB + Cu-Präparat	—	—	0	0
14 Monate	unbehandelt	ca. 1 Woche früher	ca. 1 Woche früher	7	9
	Hg-Präparat	—	—	0	0
	HCB + Cu-Präparat	—	—	0	0
19 Monate	unbehandelt	—	—	0	0
	Hg-Präparat	—	—	0	0
	HCB + Cu-Präparat	—	—	0	0
23 Monate	unbehandelt	ca. 1 Woche früher	ca. 1 Woche früher	Sp.	Sp.
	Hg-Präparat	—	—	0	0
	HCB + Cu-Präparat	—	—	0	0
26 Monate	unbehandelt	ca. 1 Woche früher	ca. 1 Woche früher	Sp.	Sp.
	Hg-Präparat	—	—	0	0
	HCB + Cu-Präparat	—	—	0	0
38 Monate	unbehandelt	—	—	Sp.	Sp.
	Hg-Präparat	—	—	0	0
	HCB + Cu-Präparat	—	—	0	0

Versuch B: Freiland (Homberg) Zwergbrandsporen zu verschiedenen Zeiten je 5 cm tief vergraben, ohne Zusatz von Beizpräparaten; Kontrolle: Sporen gleicher Provenienz im Laboratorium aufbewahrt und zu gleichen Zeiten auf derselben Erde (Homberg) zum Keimen angesetzt.

Sporen in Erde vergraben:	24. 8. 55;		
Sporen zum Keimen angesetzt:	6. 9. 55;	wöchentliche Keimkontrollen bis	27. 10. 55
„ „ „ „ :	21. 9. 55;	„ „ „	27. 10. 55
„ „ „ „ :	11. 4. 56;	„ „ „	18. 6. 56
„ „ „ „ :	31. 8. 56;	„ „ „	3. 10. 56
„ „ „ „ :	4. 9. 57;	„ „ „	3. 10. 57
Sporen in Erde vergraben:	21. 9. 55;		
Sporen zum Keimen angesetzt:	7. 10. 55;	wöchentliche Keimkontrollen bis	1. 12. 55
„ „ „ „ :	25. 10. 55;	„ „ „	20. 12. 55
„ „ „ „ :	25. 4. 56;	„ „ „	28. 6. 56
„ „ „ „ :	24. 9. 56;	„ „ „	6. 11. 56
„ „ „ „ :	4. 9. 57;	„ „ „	3. 10. 57
Sporen in Erde vergraben:	25. 10. 55;		
Sporen zum Keimen angesetzt:	8. 11. 55;	wöchentliche Keimkontrollen bis	27. 12. 55
„ „ „ „ :	24. 11. 55;	„ „ „	27. 12. 55
„ „ „ „ :	25. 4. 56;	„ „ „	28. 6. 56
„ „ „ „ :	24. 10. 56;	„ „ „	28. 11. 56
„ „ „ „ :	18. 10. 57;	„ „ „	10. 12. 57
Sporen in Erde vergraben:	11. 4. 56;		
Sporen zum Keimen angesetzt:	25. 4. 56;	wöchentliche Keimkontrollen bis	28. 6. 56
„ „ „ „ :	24. 5. 56;	„ „ „	23. 7. 56
„ „ „ „ :	24. 9. 56;	„ „ „	6. 11. 56
„ „ „ „ :	15. 3. 57;	„ „ „	6. 6. 57
„ „ „ „ :	29. 4. 58;	„ „ „	1. 7. 58
Sporen in Erde vergraben:	16. 7. 56;		
Sporen zum Keimen angesetzt:	31. 7. 56;	wöchentliche Keimkontrollen bis	5. 9. 56
„ „ „ „ :	31. 8. 56;	„ „ „	3. 10. 56
„ „ „ „ :	15. 3. 57;	„ „ „	6. 6. 57
„ „ „ „ :	30. 7. 57;	„ „ „	6. 9. 57
„ „ „ „ :	12. 8. 58;	„ „ „	21. 10. 58

Tabelle 2

Resultate aus Versuch B
Höchster Keimindex für trocken aufbewahrte Sporen: 84—100 %
(bis zum Abschluß des Versuches)

Sporen eingegraben	Aufbewahrungsdauer	Einsetzen der ersten Keimung im Vergleich zu trocken aufbewahrten Sporen	Höchster Keimindex %
August	2 Wochen	—	92
	1 Monat	—	96
	7½ Monate	—	0
	12 Monate	etwa 1 Woche früher	10
	24½ Monate	etwa 1 Woche früher	Sp.
September	2 Wochen	—	100
	1 Monat	± gleichzeitig	100
	7 Monate	—	Sp.
	12 Monate	etwa 1 Woche früher	8
	23 Monate	—	Sp.

Tabelle 2 (Fortsetzung)

Sporen eingegraben	Aufbewahrungsdauer	Einsetzen der ersten Keimung im Vergleich zu trocken aufbewahrten Sporen	Höchster Keimindex %
Oktober	2 Wochen	etwa 1 Woche früher	100
	1 Monat	etwa 2 Wochen früher	100
	6 Monate	—	Sp.
	12 Monate	etwa 1 Woche früher	10
	24 Monate	—	Sp.
April	2 Wochen	—	98
	1½ Monate	etwa 2 Wochen früher	100
	5½ Monate	etwa 1 Woche früher	10
	11 Monate	—	0
	24½ Monate	—	0
Juli	2 Wochen	—	100
	1 Monat	etwa 1 Woche früher	100
	8 Monate	—	0
	12½ Monate	etwa 1 Woche früher	1
	25 Monate	—	Sp.

Versuch C: Freiland (Homberg); Zwergbrandsporen 15 cm tief vergraben, ohne Zusatz von Beizpräparaten; Kontrolle: Sporen gleicher Provenienz trocken im Laboratorium aufbewahrt und zu gleichen Zeiten auf derselben Erde (Homberg) zum Keimen angesetzt.

Sporen in Erde vergraben: 24. 9. 56;
Sporen zum Keimen angesetzt: 24. 10. 56; wöchentliche Keimkontrollen bis 22. 12. 56
" " " " : 15. 3. 57; " " " 6. 6. 57
" " " " : 30. 7. 57; " " " 6. 9. 57
" " " " : 18. 10. 57; " " " 10. 12. 57

Tabelle 3

Resultate aus Versuch C
Höchster Keimindex für trocken aufbewahrte Sporen: 76—100 %
(bis zum Abschluß des Versuches)

Aufbewahrungsdauer im Boden	Einsetzen der ersten Keimung im Vergleich zu trocken aufbewahrten Sporen	Höchster Keimindex %
1 Monat	etwa 2 Wochen früher	100
6 Monate	—	0
10 Monate	etwa 2 Wochen früher	10
13 Monate	etwa 2 Wochen früher	5

Versuch D: Gewächshaus (Eternitkisten); Zwergbrandsporen 5 cm tief vergraben, Sporen zum Teil ohne Zusatz, zum Teil mit Zusatz von Beizpräparat auf Quecksilberbasis (Alkoxyalkylquecksilberverbindung), zum Teil mit Zusatz von Beizpräparat auf Pentachlornitrobenzolbasis, zum Teil mit Zusatz von Beizpräparat auf Hexachlorbenzol + Kupfer-Basis (1 Gewichtsteil Sporenpulver + 1 Gewichtsteil Beizpräparat); Kontrolle: Sporen gleicher Provenienz trocken im Laboratorium aufbewahrt und zu gleichen Zeiten auf derselben Erde (Eternitkisten) zum Keimen angesetzt.

Sporen in Erde vergraben: 20. 11. 54;
Sporen zum Keimen angesetzt: 20. 12. 54; wöchentliche Keimkontrollen bis 23. 2. 55
„ „ „ „ : 18. 2. 55; „ „ „ 1. 4. 55
„ „ „ „ : 20. 5. 55; „ „ „ 29. 6. 55
„ „ „ „ : 21. 11. 55; „ „ „ 9. 1. 56
„ „ „ „ : 30. 8. 56; „ „ „ 15. 2. 57

Tabelle 4

Resultate aus Versuch D
Höchster Keimindex für trocken aufbewahrte Sporen: 95—100 %
(bis zum Abschluß des Versuches)

Aufbewahrungsdauer im Boden	Behandlung der Sporen	Einsetzen der ersten Keimung im Vergleich zu trocken aufbewahrten Sporen	Höchster Keimindex %
2 Wochen	unbehandelt	—	80
	Hg-Präparat	—	0
	PCNB-Präparat	—	0
	HCB + Cu-Präparat	—	0
1 Monat	unbehandelt	—	28
	Hg-Präparat	—	0
	PCNB-Präparat	—	0
	HCB + Cu-Präparat	—	0
3 Monate	unbehandelt	—	10
	Hg-Präparat	—	0
	PCNB-Präparat	—	0
	HCB + Cu-Präparat	—	0
6 Monate	unbehandelt	± gleichzeitig	16
	Hg-Präparat	—	0
	PCNB-Präparat	—	0
	HCB + Cu-Präparat	—	0
12 Monate	unbehandelt	etwa 2 Wochen früher	10
	Hg-Präparat	—	0
	PCNB-Präparat	—	0
	HCB + Cu-Präparat	—	0
21 Monate	unbehandelt	etwa 2 Wochen früher	Sp.
	Hg-Präparat	—	0
	PCNB-Präparat	—	0
	HCB + Cu-Präparat	—	0

Versuch E: Kühlschrank und Labor; Zwergbrandsporen ohne Zusätze in Petrischalen in feuchter Erde gehalten [Kühlschrank: dunkel, (—8) —6 bis —4 (—2) °C; Laboratorium dunkel (+ 16) + 19 bis + 23 (+ 27) °C]. Kontrolle: Sporen gleicher Provenienz trocken im Laboratorium aufbewahrt und zu gleichen Zeiten auf derselben Erde (Petrischalen) zum Keimen angesetzt.

Sporen in Erde (Petrischalen) gebracht: 18. 10. 56;
Sporen zum Keimen angesetzt: 20. 10. 56; wöchentliche Keimkontrollen bis 5. 12. 56
„ „ „ „ : 27. 10. 56; „ „ „ 5. 12. 56
„ „ „ „ : 17. 11. 56; „ „ „ 3. 1. 57
„ „ „ „ : 19. 12. 56; „ „ „ 15. 2. 57
„ „ „ „ : 16. 4. 57; „ „ „ 24. 6. 57
„ „ „ „ : 19. 10. 57; „ „ „ 21. 12. 57

Tabelle 5

Resultate aus Versuch E
Höchster Keimindex für trocken aufbewahrte Sporen: 95—100 %
(bis zum Abschluß des Versuches)

Aufbewahrungsdauer im Boden	Einsetzen der ersten Keimung im Vergleich zu trocken aufbewahrten Sporen		Höchster Keimindex %	
	Kühlschrank	Laboratorium	Kühlschrank	Laboratorium
2 Tage	gleichzeitig	gleichzeitig	100	100
9 Tage	etwa 1 Woche früher	etwa 1 Woche früher	100	100
1 Monat	etwa 1 Woche früher	etwa 2 Wochen früher	98	88
2 Monate	etwa 1 Woche früher	etwa 2 Wochen früher	100	84
6 Monate	± gleichzeitig	etwa 1 Woche früher	100	62
12 Monate	± gleichzeitig	etwa 1 Woche früher	100	50

D. Diskussion der Ergebnisse

I. Keimgeschwindigkeit (Sporen ohne Beizmittelzusätze)

In sämtlichen Freiland-, Gewächshaus- und Laboratoriumsversuchen war eine Zunahme der Keimgeschwindigkeit der Sporen festzustellen, die während zwei und mehr Wochen im feuchten Boden lagen. Diese Vorverschiebung des Keimbeginns betrug zwischen 5 und 16 Tagen im Vergleich zu trocken aufbewahrten Sporen. Auch geht der Keimungsablauf dieser Sporenproben bedeutend rascher vor sich. Diese Verhältnisse sind für einige Teilversuche in Abbildung 1 dargestellt. Es handelt sich dabei um die Versuche B und C.

Aus diesen Beobachtungen kann geschlossen werden, daß eine eventuelle mikrobielle Beeinflussung (vgl. auch GASSNER und NIEMANN 1955) der Sporen hinsichtlich ihrer Keimverhältnisse vorliegt, was auch durch die Vergleichsversuche mit Zwergbrandsporen im Kühlschrank (bei etwa —6 bis —4 °C) einerseits und im Laboratorium (Zimmertemperatur) anderseits her-

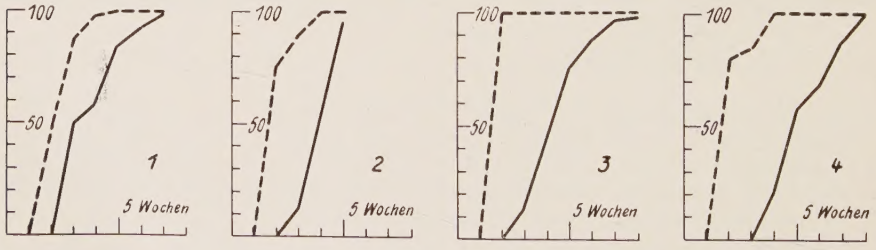


Abb. 1. Keimgeschwindigkeit einzelner im Boden (Freiland) aufbewahrten Zwergbrandsporen (gestrichelte Kurven) im Vergleich zu trocken, bei Zimmertemperatur aufbewahrten Sporen gleicher Provenienz (ausgezogene Kurven). — 1: aus Versuch B, nach 14 Tagen, 2: aus Versuch B, nach 1 Monat, 3: aus Versuch B, nach 1½ Monaten, 4: aus Versuch C, nach 1 Monat Aufbewahrungsdauer. — Abszisse: Zeit (wöchentliche Keimkontrollen). Ordinate: Keimindex (%)

vorgeht (Versuch E, Tab. 5, Abb. 2). Der Keimverlauf im Versuch E ist nach zwei Tagen Aufbewahrungsdauer noch als gleich zu betrachten. Bereits nach neun Tagen war festzustellen, daß der Keimbeginn etwa eine Woche früher einsetzte als in den Feldversuchen. Bei längeren Aufbewahrungszeiten ist vor allem eine Keimbeschleunigung (bis etwa zwei Wochen) bei den Sporen zu beobachten, die in feuchter Erde im Laboratorium gehalten wurden, während die Keimbeschleunigung bei den im Kühlschrank aufbewahrten Sporen geringer war. Ähnliche Verhältnisse lagen auch beim Gewächshausversuch (D) vor.

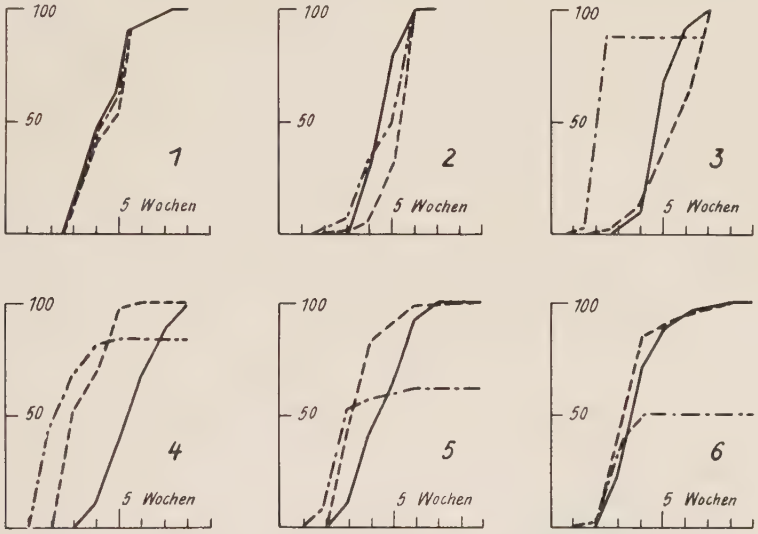


Abb. 2. Keimgeschwindigkeit einzelner in Petrischalen (Erde) im Kühlschrank (gestrichelte Kurven) bzw. bei Zimmertemperatur in Erde (strich-punktierte Kurven) aufbewahrten Zwergbrandsporen im Vergleich zu trocken, bei Zimmertemperatur aufbewahrten Sporen gleicher Provenienz (ausgezogene Kurven). 1: nach 2 Tagen, 2: nach 9 Tagen, 3: nach 1 Monat, 4: nach 2 Monaten, 5: nach 6 Monaten, 6: nach 1 Jahr dauernder Aufbewahrungszeit. — Abszisse: Zeit (wöchentliche Keimkontrollen). Ordinate: Keimindex (%)

II. Keimkraft und jahreszeitliche Schwankungen (Sporen ohne Beizmittelzusätze)

Nach den erhaltenen Resultaten zu schließen, geht die Keimkraft mit zunehmender Aufbewahrungsdauer im Boden bei Freiland-, Gewächshaus- und Zimmertemperaturen erheblich zurück (Tab. 1 bis 5, Abb. 3). Auch hier scheinen die mikrobiellen Einflüsse eine nicht geringe Rolle zu spielen, was besonders im Versuch E (Tab. 5) zum Ausdruck kommt. Die Keimkraft hielt bei den Sporen, die im Kühlschrank aufbewahrt wurden, über eine Zeitspanne bis zwölf Monate an, und zwar mit dem höchstmöglichen Keimindex. Bei den in feuchter Erde bei Zimmertemperatur gehaltenen Sporen ging die Keimkraft im Laufe der zwölf Monate auf ungefähr die Hälfte zurück. Im

Vergleich zum Gewächshaus (Tab. 4) und den Freilandversuchen (Tab. 1 bis 3, Abb. 3) war die Keimung allerdings erheblich höher. Wahrscheinlich stimmten die Feuchtigkeitsverhältnisse und damit eventuell die mikrobiologische Tätigkeit des Bodens nicht mit denjenigen des Gewächshauses und dem Freiland überein, da in den benützten Petrischalen als Aufbewahrungsort wahrscheinlich die Dicke der Erdschicht zu gering war.

In allen drei Feldversuchen A, B und C konnte eine gewisse Alternanz in der Keimkraft beobachtet werden (Abb. 3). Sporen, die fünf und mehr Monate im Boden vergraben blieben, keimten in den darauffolgenden Monaten März und April nicht; nur im Versuch A (Sporen 25 cm tief vergraben) wurde vereinzelt sehr spärliche Keimung beobachtet. Die entsprechenden Keimkontrollen erstreckten sich in diesen Fällen über zwei bis drei Monate. Diese Verhältnisse wurden sowohl 1956 als auch 1957 und 1958 festgestellt. Die Gründe dieser jahreszeitlichen Schwankungen konnten bis heute nicht geklärt werden. Sehr wahrscheinlich spielen noch andere Faktoren als die mikrobiellen Einflüsse eine Rolle, denn die Sporen zeigten eine meßbare Keimung auch in den darauffolgenden Sommermonaten, in denen die mikrobielle Tätigkeit der Böden sicher nicht geringer war als in den Monaten März und April. Solche Schwankungen konnte weder im Gewächshausversuch D (Sporen im Februar und im Mai ausgegraben) noch im Laboratoriumsversuch E (Sporen im April zur Keimung angesetzt) beobachtet werden.

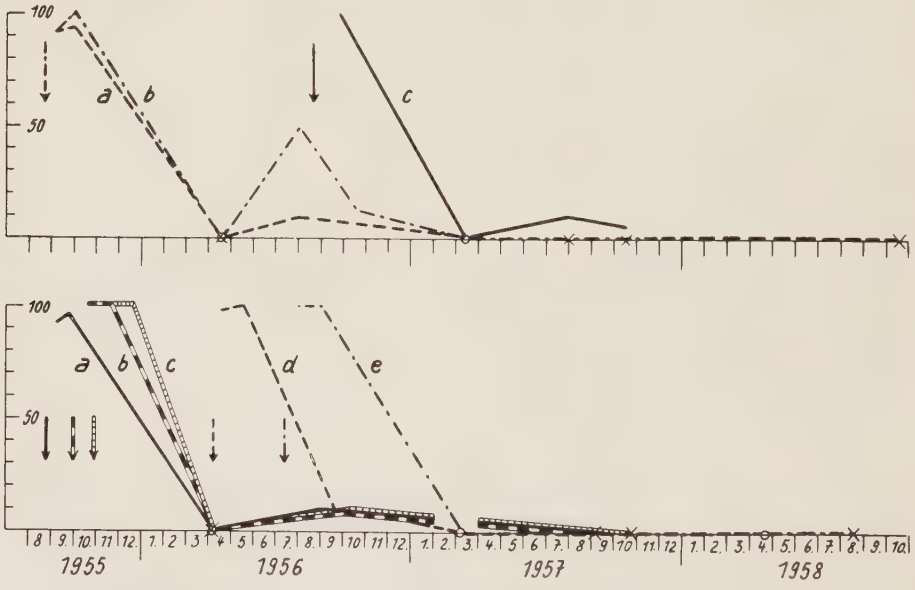


Abb. 3. Beste Keimung (höchster Keimindex) von Zwergbrandsporen (ohne Beizmittelzusätze), die während 2 Wochen bis 3 Jahren im Boden (Freiland) aufbewahrt wurden. Obere Abbildung: Versuch A, Sporen 5 cm tief vergraben (Kurve a), 25 cm tief vergraben (Kurve b), Versuch C, Sporen 15 cm tief vergraben (Kurve c). Untere Abbildung: Versuch B, Sporen zu verschiedenen Zeiten im Boden 5 cm tief vergraben (Pfeile); Kurve a: August, b: September, c: Oktober, d: April, e: Juli. — Abszisse: Kontrollmonate 1955 bis 1958. Ordinate: Keimindex (%)

Die jahreszeitliche Schwankung dürfte einer der Gründe sein, warum der Sommerweizen in der Regel nicht oder nur schwach befallen wird bei üblicher Frühjahrssaat.

III. Einfluß der Bodentiefe auf die Keimung (Sporen ohne Beizmittelzusatz)

Zur Klärung der Frage einer möglichen Abhängigkeit der Keimgeschwindigkeit und der Keimkraft von der Bodentiefe wurden im Versuch A die Sporen in 5 bzw. 25 cm Tiefe vergraben. Es zeigte sich, daß die Keimgeschwindigkeit nicht beeinflußt wird. Dagegen zeigte sich eine leichte Erhöhung der Keimkraft bei Sporen, die in 25 cm Tiefe aufbewahrt wurden (Tab. 1, Abb. 3). Allerdings sind die Unterschiede als gering zu betrachten.

IV. Wirkung von Beizpräparaten auf Zwergbrandsporen

Die chemische Bekämpfung des Zwergbrandes kann mit einer Beizung des Saatgutes allein nicht vorgenommen werden, da ein massiver Zwergbrandbefall bekanntlich durch Bodenverseuchung mit Sporen zustande kommt (z. B. Warmbrunn 1952 und eigene Versuche); erfolgreich wird sie erst dann, wenn die Bodenoberfläche mit Hexachlorbenzol (HCB) oder Pentachlornitrobenzol (PCNB)-Präparaten behandelt wird (z. B. Wagner 1952, 1953, Gassner 1953 und eigene Versuche).

Die Frage der Übertragung von Zwergbrandsporen durch gebeiztes Saatgut wurde im Freilandversuch A und im Gewächshausversuch D zu klären

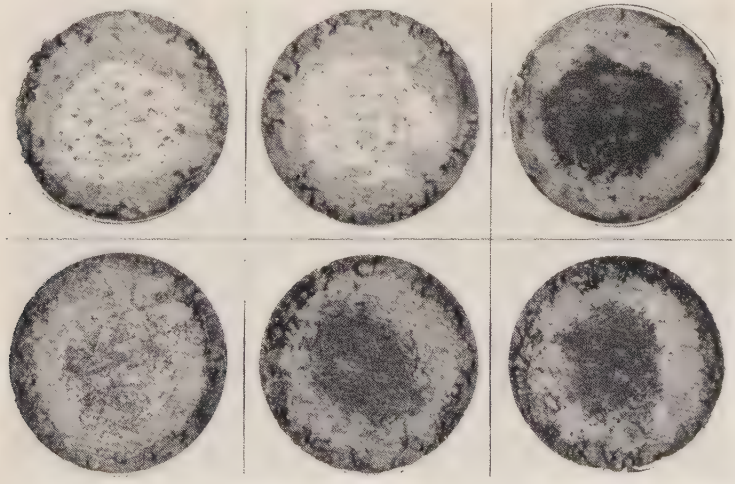


Abb. 4. Erhaltung der Aktivität von Beizmitteln, die während 38 Monate im Boden aufbewahrt wurden. Keimung der frischen, als Testobjekte zugesetzten Stinkbrandsporen (*Tilletia tritici*). Obere Reihe: im Boden, untere Reihe: im Labor trocken aufbewahrte Zwergbrand-Beizmittel-Mischungen. Von links nach rechts (obere und untere Reihe): ohne, mit Hg-haltigem, mit HCB + Cu-haltigem Beizmittelzusatz. — Weitere Erklärungen im Text (Phot. M. Hirner)

versucht, indem neben unbehandelten Zwergbrandsporen auch solche zur Verwendung kamen, die mit Beizpräparaten auf Hg- bzw. HCB + Cu bzw. PCNB-Basis im Gewichtsverhältnis 1 : 1 vermischt wurden. Aus den Tabellen 1 und 4 geht hervor, daß noch nach 21 bzw. 38 Monaten Aufbewahrungsdauer im Boden nicht die geringste Keimung beobachtet werden konnte.

Um zu klären, ob die Beizmittel, die vor 38 Monaten mit den Zwergbrandsporen in den Boden gelangten, noch eine Aktivität aufwiesen, wurde aus dem Versuch A die Sporenschicht samt den Beizpräparaten sorgfältig abgekratzt, während zwei Tagen an der Luft bei Zimmertemperatur getrocknet, im Mörser zerrieben, mit frischen Stinkbrandsporen vermischt und diese zum Keimen bei 9 bis 12 °C auf glattgestrichener Erde in Petrischalen angesetzt. Zur Kontrolle wurden gleichzeitig Zwergbrandsporen gleicher Provenienz und Behandlung verwendet, die im Laboratorium trocken aufbewahrt wurden.

Tabelle 5

Wirksamkeit von quecksilber- bzw. Hexachlorbenzol + kupferhaltigen Beizmitteln nach 38 Monate dauernder Aufbewahrungszeit im Boden (aus Versuch A)

Keimindizes von frisch zugesetzten Stinkbrandsporen (*Tilletia tritici*)

Zusätze zu frischen Stinkbrandsporen (Ernte 1958)	Keimindex der zugesetzten frischen Stinkbrandsporen	
	nach 6 Tagen	nach 15 Tagen
Zwergbrandsporen (ohne bzw. mit Beizmitteln) im Boden aufbewahrt:		
abgekratzte Schicht (Versuch A, 5 cm tief) ohne Beizmittel	80	100
abgekratzte Schicht (Versuch A, 5 cm tief) mit Hg-Beizmittel	80	100
abgekratzte Schicht (Versuch A, 5 cm tief) mit HCB + Cu-Beizmittel	0	0
abgekratzte Schicht (Versuch A, 25 cm tief) ohne Beizmittel	80	100
abgekratzte Schicht (Versuch A, 25 cm tief) mit Hg-Beizmittel	80	100
abgekratzte Schicht (Versuch A, 25 cm tief) mit HCB + Cu-Beizmittel	0	0
Zwergbrandsporen (ohne bzw. mit Beizmitteln) trocken (Labor) aufbewahrt:		
ohne Beizmittel	80	100
mit Hg-Beizmittel (als Gemisch)	0	0
mit HCB + Cu-Beizmittel (als Gemisch)	0	0
Zwergbrandsporen (ohne Beizmittel) trocken (Labor) aufbewahrt:		
ohne Beizmittel	80	100
mit Hg-Beizmittel (frisch zugesetzt)	0	0
mit HCB + Cu-Beizmittel (frisch zugesetzt)	0	0
Ohne Zwergbrandsporen:		
ohne Beizmittel	80	100
Hg-Beizmittel (frisch zugesetzt)	0	0
HCB + Cu-Beizmittel (frisch zugesetzt)	0	0

Die erhaltenen Resultate gehen aus der Tabelle 5 und Abbildung 4 hervor. Es zeigte sich, daß das Hg-haltige Beizmittel nach 38 Monaten Aufbewahrungsdauer im Boden nicht mehr aktiv ist; die beigemischten Stinkbrandsporen keimten genau gleich gut wie diejenigen ohne weitere Zusätze. Das HCB + Cu-haltige Beizmittel unterband im Gegensatz dazu die Keimung vollständig. Ob es sich hierbei hauptsächlich um den Kupferzusatz handelt, kann nicht beurteilt werden; doch ist zu berücksichtigen, daß Hexachlorbenzol und übrigens auch Pentachlornitrobenzol im Boden anscheinend relativ rasch abgebaut werden.

Die während 38 Monaten trocken aufbewahrten und seinerzeit mit Zwergbrandsporen vermischten Beizmittel zeigten dagegen noch eine totale Wirkung auf die Keimung der Stinkbrandsporen. Irgendwelche Stimulationswirkungen von quecksilberhaltigen Beizmitteln (Niemann 1956 a, b und 1957) konnten in diesen Versuchen nicht beobachtet werden.

V. Sporenabbau im Boden

Bereits nach einjähriger Aufbewahrungsdauer der Zwergbrandsporen im Boden, waren mit der Lupe bei den Proben ohne Beizmittelzusatz nur noch sehr wenige Sporen, bei den Proben mit Beizmittelzusatz dagegen noch praktisch alle Sporen in dicker Schicht festzustellen. Eine Ausschwemmung der Sporen konnte demnach nicht in Betracht gezogen werden. Bei der mikro-

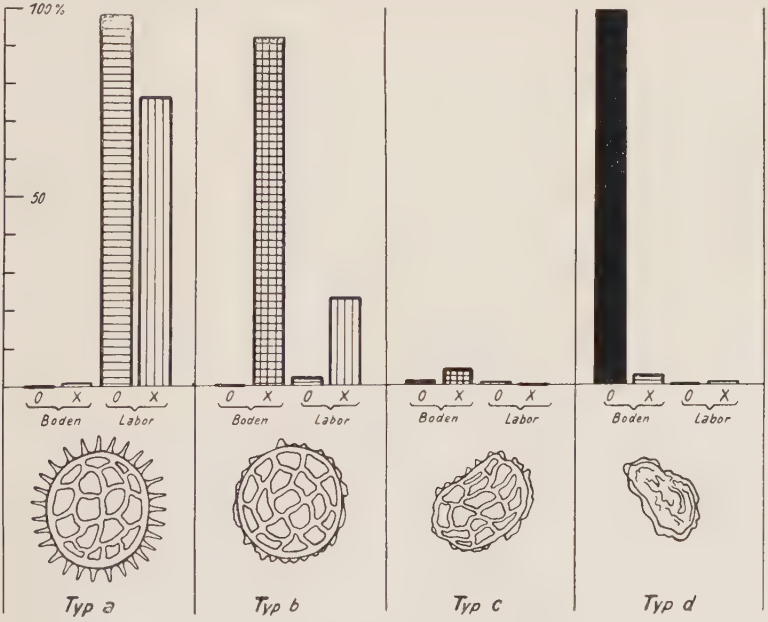


Abb. 5. Frequenzen der verschieden stark abgebauten Sporen (Versuch A). Zuunterst: Sporentypen a bis d. Säulen: O: ohne Beizmittelzusatz (Mittelwerte für 5 bzw. 25 cm Aufbewahrungstiefe); X: mit Beizmittelzusatz (Mittelwerte für 5 bzw. 25 cm Aufbewahrungstiefe und für beide verwendeten Beizmittel). „Boden": Im Boden (Freiland) aufbewahrt; „Labor": im Laboratorium trocken aufbewahrt. — Ordinate: %-Anteile der 4 Sporentypen (vgl. Tab. 6)

skopischen Kontrolle zeigte sich, daß in den Sporenproben ohne Beizmittelzusatz sehr viele stark zerstörte Sporen und nur noch vereinzelte Sporen von runder Gestalt vorhanden waren.

Für die Bestimmung der prozentualen Anteile der verschieden stark abgebauten Sporen im Boden wurden vier verschiedene Typen gewählt (Abb. 5):

Typ a: Als Zwergbrandsporen deutlich erkennbar (gute Ausbildung der Netzleisten, im optischen Querschnitt gut ausgebildete „Stacheln"; Sporen mit bzw. ohne Schleimhülle).

Typ b: Als Zwergbrandsporen nur undeutlich, jedoch als Brandsporen noch deutlich erkennbar (Netzleisten vorhanden, im optischen Querschnitt „Stacheln" zu Buckeln deformiert; mit oder ohne Schleimhülle).

Typ c: Als Zwergbrandsporen nicht mehr, als Brandsporen nur noch undeutlich erkennbar (Netzleisten zum Teil noch vorhanden; im optischen Querschnitt undeutliche Buckel anstatt „Stacheln"; Sporenkörper mehr oder weniger deformiert).

Typ d: Weder als Zwergbrandsporen noch als Brandsporen deutlich erkennbar (ohne Netzleisten, ohne Buckel im optischen Querschnitt; Sporenkörper stark deformiert, zum Teil aufgelöst. Wenn nicht sicher wäre, daß hier ursprünglich Brandsporen in Mengen vorhanden waren, so könnte die Herkunft dieser Überreste nicht mehr bestimmt werden).

Tabelle 6

Prozentanteile der verschieden stark zerstörten Sporen (Sporentypen a bis d; aus Freilandversuch A und 38monatiger Aufbewahrungsdauer im Boden)

Aufbewahrungsort und Behandlung der Zwergbrandsporen	Typ a %	Typ b %	Typ c %	Typ d %
Sporen ohne Beizmittelzusatz, 5 cm tief vergraben	0,0	0,0	0,8	99,2
Sporen ohne Beizmittelzusatz, 25 cm tief vergraben	0,0	0,0	0,4	99,6
Sporen mit Zusatz von quecksilberhaltigem Beizmittel, 5 cm tief vergraben	0,8	92,5	4,5	2,2
Sporen mit Zusatz von quecksilberhaltigem Beizmittel, 25 cm tief vergraben	0,1	88,5	6,4	5,0
Sporen mit Zusatz von Hexachlorbenzol + kupferhaltigem Beizmittel, 5 cm tief vergraben	0,1	94,2	3,6	2,1
Sporen mit Zusatz von Hexachlorbenzol + kupferhaltigem Beizmittel, 25 cm tief vergraben	0,2	97,7	1,3	0,8
Sporen trocken aufbewahrt (Labor) ohne Beizmittelzusatz, vier Wochen in Keimschalen gehalten	92,6*	5,7	1,5	0,2
Sporen trocken aufbewahrt (Labor) ohne Beizmittelzusatz	97,7**	1,9**	0,4	0,0
Sporen trocken aufbewahrt (Labor) mit Zusatz von quecksilberhaltigem Beizmittel	77,9**	21,6**	0,0	0,5
Sporen trocken aufbewahrt (Labor) mit Zusatz von Hexachlorbenzol + kupferhaltigem Beizmittel	74,6**	24,6**	0,5	0,3

* Etwa vier Fünftel Sporen besitzen Schleimhüllen.
** Sämtliche Sporen besitzen Schleimhüllen.

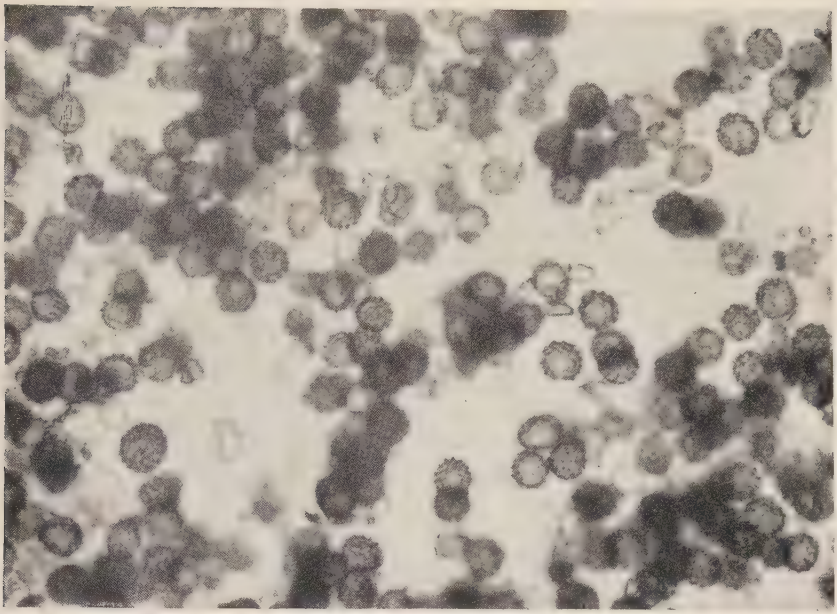


Abb. 6. Zustand der Zwergbrandsporen mit Zusatz von Hg-haltigem Beizmittel, 5 cm tief vergraben, nach 23monatiger Aufbewahrungsdauer im Boden (Versuch A). — Vergrößerung: 250mal (Phot. M. Hirner)

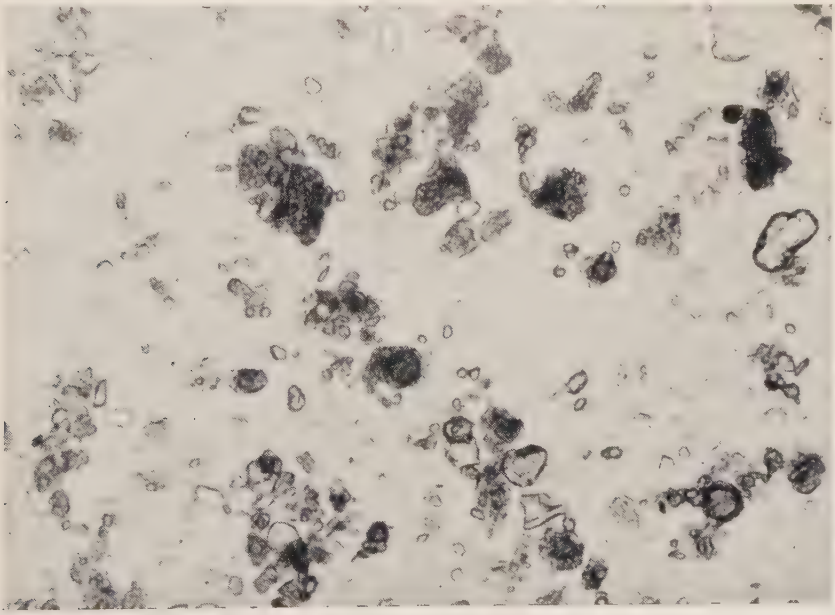


Abb. 7. Zustand der Zwergbrandsporen ohne Beizmittelzusatz, 5 cm tief vergraben, nach 23monatiger Aufbewahrungsdauer im Boden (Versuch A). — Vergrößerung: 250mal (Phot. M. Hirner)

Die Klassifizierung der Sporen in Typen a bis d erfolgte an Hand von je 1000 Sporen (aus 2 Wiederholungen); die Resultate aus dem Versuch A nach 38monatiger Aufbewahrungsdauer im Boden sind in Tabelle 6 dargestellt. In den übrigen Versuchen, sowohl im Freiland als auch im Gewächshaus (jedoch nicht im Laboratoriumsversuch), konnten dieselben Verhältnisse beobachtet werden. Die verwendeten Beizmittel (Hexachlorbenzol + Kupfer-, bzw. Pentachlornitrobenzol- bzw. quecksilberhaltige Beizmittel) übten einen konservierenden Einfluß auf die Zwergbrandsporen aus; diese keimten jedoch bis heute in keinem Falle. Die Zwergbrandsporen ohne Beizmittelzusatz wurden im Boden relativ rasch abgebaut. Schon nach einem Jahre waren nur noch wenig Zwergbrand- bzw. als Brandsporen erkennbare Exemplare vorhanden. Alle übrigen Sporen sind wahrscheinlich auf biologischem Wege abgebaut worden. Schon nach einigen Wochen Aufbewahrungsdauer im Boden konnten dichte Bakterienhüllen an den Sporen festgestellt werden.

Die Abbildungen 6 und 7 vermitteln ein Bild von diesen Verhältnissen.

E. Allgemeine Betrachtungen zur Epidemiologie des Zwergbrandes

Das epidemische Auftreten des Zwergbrandes hängt, günstige Umweltbedingungen vorausgesetzt, vom Verseuchungsgrad des Bodens mit infektionstüchtigen Sporen ab. Wenn z. B. 60 % der Ähren in einem Felde bei einer durchschnittlichen Ährenzahl von etwa 30 000 je Are befallen sind, so ist anzunehmen, daß wegen der Trefferwahrscheinlichkeit ein Vielfaches dieser Zahl an gut verteilten, infektionstüchtigen und zudem auf der Bodenoberfläche liegenden Sporen im geeigneten Zeitpunkt vorhanden sein muß (Keimlingsstadien des Weizens, Bildung junger Nebentriebe im Herbst, Winter und eventuell frühen Frühjahr; vgl. Abschnitt C II und auch Böning 1954, 1955).

Im folgenden soll kurz auf die wichtigsten Möglichkeiten der Übertragung und Ausbreitung des Zwergbrandes eingegangen werden.

a) Überdauern der Sporen im Boden

Die Sporen, die auf irgendeine Weise in und auf den Boden gelangen, können vor allem im ersten Jahre Infektionen auslösen. Bereits nach einem Jahre ist ein großer Teil der Sporen im Boden zerstört. Damit sinkt die Trefferwahrscheinlichkeit einer Infektion auf ein Minimum zurück, woraus zu schließen ist, daß für eine Massivinfektion das dazu notwendige Sporenmaterial praktisch jedes Jahr neu auf die Weizenäcker gelangen muß. Zudem ist zu berücksichtigen, daß bei einer einigermaßen geregelten Fruchtfolge zwergbrandanfälliger Weizen erst nach einigen Jahren wieder auf dem ursprünglich verseuchten Acker angebaut wird, weshalb die Infektionsgefahr praktisch auf den Nullpunkt zurückgeht.

b) Übertragung durch verseuchtes Saatgut

Nach den durchgeführten Untersuchungen zu schließen, dürfte eine Übertragung der Zwergbrandsporen durch das Saatgut kaum von großer Bedeutung sein. Die mit Beizmitteln vermischten Sporen können während minde-

stens drei Jahren nicht mehr keimen. Bei ungebeiztem Saatgut ist eventuell noch eine geringe Gefahr der Übertragung vorhanden, da die Sporen unter Umständen auch im Dunkeln keimen können (NIEMANN 1956 a). Allerdings haben frühere Feldversuche gezeigt, daß ein Befall auf diese Art nicht von großer Bedeutung sein kann.

c) Abgefallene Brandbutten und zurückbleibende Ähren

Bei der Ernte können befallene Ähren und Brandbutten auf dem Felde zurückbleiben und den Boden verseuchen. Mit der Bodenbearbeitung erfolgt eine gewisse Verteilung auf dem Acker und damit eine Verseuchung des Bodens mit Sporen. Auch hier gelten dieselben Gesichtspunkte wie bei der Verschleppung durch das ungebeizte Saatgut. Es können auf diese Weise große Mengen von Sporen in den Boden gelangen, doch sinkt die Infektionsgefahr bei einer mehr oder weniger geregelten Fruchtfolge wegen der Einflüsse des Edaphons auf ein Minimum ab. Für eine massive Infektion fällt auch diese Übertragungsart wahrscheinlich außer Betracht; dagegen dürften vereinzelte Infektionen von Haupt- und Nebenwirten möglich sein.

d) Befallene Nebenwirte

Als Nebenwirte für den Zwergbrand können verschiedene Gräser funktionieren (z. B. FISCHER 1952, MEINERS 1955, 1956, MEINERS et al. 1956, KOBEL 1956, NIEMANN 1956 b). Die Nebenwirte können für die Übertragung von Jahr zu Jahr wichtig sein, doch dürften sie aus den bereits dargelegten Gründen für eine Massivinfektion kaum in Frage kommen. Ihr Vorkommen ist zahlenmäßig zu gering, um ein genügend großes Sporenmaterial schlagartig zur Verfügung zu stellen.

e) Übertragung durch verseuchtes Stroh aus Befallsgebieten

Beim Dreschvorgang werden Brandbutten aufgeschlagen. Die Sporen gelangen klumpenweise oder als feiner Staub auf das Stroh und mit diesem im Frühjahr auf die Felder. Wird auf solchen verseuchten Feldern im Herbst Weizen angebaut, so dürfte eine ziemlich starke Infektion zu erwarten sein. Allerdings wird aber ein großer Teil der Sporen bereits im Spätherbst abgebaut sein.

Man kann sich vorstellen, daß auf diese Weise ein schwacher bis mittelstarker Befall möglich wird. Vor allem ist damit eine Verschleppung in nicht verseuchte Gebiete ohne weiteres gegeben. Mit Zwergbrandsporen verseuchtes Stroh erlangt demnach als Infektionsquelle sicher eine gewisse Bedeutung als Ausgangspunkt für Massivinfektionen im nächsten Jahre.

Übertragung der Zwergbrandsporen durch den Wind

Hin und wieder kann beobachtet werden, daß Brandbutten bereits auf dem Felde aufspringen können und damit die Möglichkeit einer Verbreitung durch den Wind liefern. Diese Verseuchungsmöglichkeit dürfte jedoch für eine massive Verbreitung und Verseuchung benachbarter Felder kaum bedeutungsvoll sein. Dagegen kann immer wieder festgestellt werden, daß beim Drusch stark infizierter Getreideposten eine Unmenge Sporen befreit wird. Dies ist sowohl beim Zwergbrand als auch beim gewöhnlichen Stinkbrand der Fall.

Es kann vorkommen, daß die Dreschscheunen innen einen dicken, schwarzen Belag von Brandsporen aufweisen. Es dürfte klar sein, daß unter solchen Verhältnissen auch große Mengen von Sporen ins Freie gelangen und vom Wind über relativ weite Distanzen verschleppt werden können. Eine massive Bodenverseuchung käme somit hauptsächlich in der Nähe der Dreschplätze, in Zonen des Windstaues usw. vor. Bei der Sichtung der eigenen, bis heute durchgeführten Feldversuche zur Bekämpfung des Zwergbrandes fällt immer wieder auf, daß an diesen Stellen der Zwergbrandbefall am größten ist, wie es die folgenden Beispiele zeigen.

1. Stinkbrand: Es ist bekannt, daß die üblichen Beizmittel den Befall bei reiner Saatgutübertragung praktisch vollständig unterdrücken. Dagegen ist ihre Wirkung bei einer Bodenverseuchung durch Stinkbrandsporen ungenügend. In einem Feldversuch mit künstlicher Verseuchung des Bodens konnte der Befall durch die Anwendung von Beizmitteln von etwa 30 % auf nur 2 bis 10 % gesenkt werden.

Ein instruktives Beispiel aus der Praxis für eine Verseuchung des Bodens mit Stinkbrandsporen durch den Wind von Dreschplätzen aus ist folgendes: An der nordöstlichen Längsseite eines einige hundert Meter langen und etwa siebzig Meter breiten, mit gebeiztem Winterweizen besäten Ackers stand eine 4 bis 5 m hohe, etwa 50 m lange Gefängnismauer. In einem ungefähr 5 bis 6 m breiten Rand längs der Mauer zeigte sich ein starker Stinkbrandbefall, während der übrige Acker praktisch befallsfrei war. Die Dreschplätze des ungefähr einen Kilometer entfernten Dorfes lagen in westlicher Richtung, d. h. in der Hauptwindrichtung. Hier läßt sich ohne Zwang ableiten, daß im Bereiche des Windstaues längs der Mauer eine massive Bodenverseuchung mit Stinkbrandsporen von den Dreschplätzen her zustande kam.

2. Zwergbrand: Daß sich für den Zwergbrand die Verhältnisse ähnlich gestalten, dürfte auf der Hand liegen. Nach den heutigen Beobachtungen kommt eine massive Verseuchung hauptsächlich in der Hauptwindrichtung von den Dreschplätzen her vor, ebenso längs Baumalleen, Hecken, Waldrändern, Gehöften, ebenso an Wind-exponierten Stellen, bei Durchgängen zwischen Waldstücken usw.

Eine solche Übertragung von Zwergbrandsporen durch den Wind dürfte für eine Massivinfektion die weitaus größte Rolle spielen. Selbstverständlich wirkt der Mähdrescher ohne Staubfang in dieser Hinsicht noch sicherer.

g) Epidemiologische Schwankungen

Das zeitweilig starke Auftreten des Zwergbrandes muß auf verschiedene Faktoren zurückgeführt werden. So spielen die Umweltbedingungen eine Rolle, besonders auch für das Zusammenbrechen einer Epidemie. Nach einem solchen rapiden Zusammenbruch, wie es in den letzten Jahren der Fall war, muß zuerst eine gewisse Zeit verstreichen, bis unter günstigen Umweltbedingungen wieder ein genügend großes Sporenmaterial vorhanden ist. Dies bedingt, daß Jahr für Jahr mehr Brandsporen auf die Äcker gelangen und infizieren können.

Nach den vorgelegten Untersuchungsergebnissen und angestellten Überlegungen dürfte man sich den Ablauf des epidemischen Auftretens folgendermaßen vorstellen:

1. Überdauerung des Zwergbrandes mit Hilfe von Neben- und Hauptwirten in geringer Zahl, wobei die eigentliche, massive Bodenverseuchung noch nicht einsetzen kann.

2. Ausbruch einer Epidemie durch massive Bodenverseuchung mit Sporen, die hauptsächlich von Dreschplätzen her stammen und vom Winde hergetragen werden.

3. Zusammenbrechen einer Epidemie z. B. wegen ungünstiger Umweltbedingungen, wegen Verwendung von Chemikalien (auf Hexachlorbenzol- bzw. Pentachlornitrobenzol-Basis) als Spritzpräparate zur Behandlung der Bodenoberfläche in den Hauptbefallsgebieten.

Zusammenfassung

An Hand der beschriebenen Methoden (Eingraben von Zwergbrandsporen im Boden; dicht gewobenes Nylontuch als Unterlage) war es möglich, das Keimverhalten und den Abbau von Zwergbrandsporen sukzessive zu verfolgen, die während einer Zeit bis zu mehr als 3 Jahren im Boden aufbewahrt wurden.

1. Keimgeschwindigkeit: Die Keimung von im Boden aufbewahrten Zwergbrandsporen (ohne Beizmittelzusätze) setzte bereits nach einer ein- bis mehrwöchigen Aufbewahrungsdauer im Boden 5 bis 16 Tage früher ein als diejenige von trocken aufbewahrten Sporen gleicher Provenienz (Abb. 1 und 2).

2. Keimkraft und jahreszeitliche Schwankungen: Bereits nach einer mehrmonatigen Aufbewahrungsdauer im Boden nahm die Keimkraft stark ab, was auf mikrobiologische Einflüsse zurückzuführen ist. Schon nach 6 Monate dauernder Aufbewahrung von Zwergbrandsporen im Boden war nur noch eine sehr geringe Keimung festzustellen. Vereinzelte Sporen konnten aber noch nach 38 Monaten Aufbewahrungszeit auskeimen. Sporen, die im Herbst vergraben wurden, keimten in den darauffolgenden Monaten März und April nicht oder nur sehr vereinzelt, dagegen war in den darauffolgenden Sommer- und Herbstmonaten eine etwas stärkere Keimung zu beobachten. Die Gründe für diese jahreszeitlichen Schwankungen sind nicht bekannt (Tab. 1 bis 5; Abb. 3).

3. Einfluß der Bodentiefe: Es konnte praktisch kein Einfluß der Bodentiefe (5, 15 und 25 cm) festgestellt werden.

4. Einfluß von Beizmitteln auf die Sporenkeimung: Noch nach 38monatiger Aufbewahrungszeit der Zwergbrandsporen, die mit Hg- bzw. HCB + Cu- bzw. PCNB-haltigen Beizpräparaten im Gewichtsverhältnis 1 : 1 vermischt wurden, war keine Keimung festzustellen.

Das Hg-haltige Beizmittel zeigte nach 38monatiger Aufbewahrungsdauer im Boden keine Wirkung mehr; dagegen vermochte das HCB + Cu-haltige Präparat noch nach dieser Aufbewahrungszeit, wahrscheinlich wegen des Kupferzusatzes eine volle Wirkung auszuüben, was an Hand von beigegebenen frischen Stinkbrandsporen festgestellt wurde. Es ist anzunehmen, daß auf alle Fälle die mit dem Hg-haltigen Beizpräparat behandelten Sporen abgetötet worden sind (Tab. 5, Abb. 4).

5. Sporenabbau im Boden: Zwergbrandsporen ohne Beizmittelzusatz werden im Boden schon nach 6 Monaten abgebaut. Morphologisch ist nur noch ein verschwindend kleiner Teil der in den Boden gebrachten Zwergbrandsporen als solche zu erkennen. Dagegen blieben die Sporen in ihrer Gestalt zum größten Teil erhalten, wenn Hg- bzw. HCB + Cu- bzw. PCNB-haltige Beizpräparate beigegeben wurden. Diese Beizpräparate wirken demnach konservierend auf die Gestalt der Sporen (Tab. 6, Abb. 5, 6 und 7).

6. Allgemeine Fragen zum epidemischen Auftreten des Zwergbrandes: Nach den vorliegenden Untersuchungen und Überlegungen spielt für eine Massivinfektion hauptsächlich die Bodenverseuchung mit Zwergbrandsporen eine große Rolle, die von Dreschplätzen oder vom Mähdrescher her durch den Wind verschleppt werden.

Die Übertragung durch verseuchtes Stroh kann unter Umständen eine gewisse Bedeutung für ein verstärktes Auftreten des Zwergbrandes erlangen. Dagegen kommt der Möglichkeit einer Übertragung durch das ungebeizte Saatgut, durch abgefallene Brandbutten oder zurückbleibende Brandsporen auf dem Felde oder durch befallene Nebenwirte (Gräser) wegen ihrer zahlenmäßig geringen Trefferwahrscheinlichkeit für eine Massivinfektion kaum eine Bedeutung zu. Diese Verschleppungsmöglichkeiten sind jedoch wichtig für die Erhaltung des Zwergbrandes in einem bestimmten Gebiet.

Summary

Studies on the survival of spores of dwarf bunt of wheat (*Tilletia controversa* Kühn) in soil

For examination of the survival of spores in soil they must be brought into close contact with the edaphone. The experiments were carried out in plain field, in pots in the greenhouse and in petridishes in the refrigerator. The method used was the following one:

The spores were brought on square, closely woven nylon cloth (sides 10 cm in length) placed flat into furrows of 5, 15 or 25 cm depth carefully covered with the lifted soil, or in pots in the greenhouse or petridishes in the refrigerator. From time to time the spores were digged off and brought for germination at 3 to 5 °C under continuous, artificial light on the surface of soil in petridishes. The spores were kept in soil up to 38 months.

The results:

1. Rapidity of germination: The germination of spores without any admixtures of seed-disinfectants kept during one to several weeks in soil was accelerated 5 to 16 days compared with spores stored under dry condition in the laboratory (Figures 1 and 2).

2. Intensity of germination and seasonal alternation: After a keeping time of several months of the spores in soil a very remarkable decrease in intensity of germination occurred showing only traces of germination even after 38 months. But only a few spores of the exposed millions were capable to germinate. Spores placed in autumn in the soil did not germinate during the following months march and april (except some single germinated spores). The causal origine of this seasonal alternation observed in the 3 years 1956 to 1958 remains unknown. (Tables 1 to 5, Figure 3).

3. Depth of storing the spores in soil: no influence.

4. Influence of seed disinfectants: Spores were mixed with seed disinfectants (1 : 1 proportion in weight) containing mercury (organic compound), Hexachlorobenzene + copper (HCB + Cu) or Pentachloronitrobenzene (PCNB) respectively. Even after 38 months no germination occurred. For examination of the efficacy of the stored seed-disinfectants the dried pulverized layers of dwarf bunt spores mixed with the seed disinfectants were mixed with fresh spores of *Tilletia tritici* (bunt or stinking smut of wheat) putting them on soil in petridishes at 9 to 12 °C for germination. The Hg-disinfectant showed no more activity on the fresh spores; it has lost its activity. In contradiction to this the disinfectant containing HCB + Cu, the fresh, mixed up spores of smut could not germinate perhaps as consequence of the copper content. The PCNB was not examined. This means that the Hg-seed disinfectant kills the dwarf bunt spores. (Table 5, figure 4).

5. Degeneration of dwarf bunt spores in the soil: Spores without any addition of seed disinfectants show a very rapid morphological degeneration already after a six month storage in soil. There are only a few spores determinable as bunt spores. The greatest part of the spores is destroyed perhaps by microbiological influences; they are no more capable to germinate. In contradiction to this, the spores mixed up with seed disinfectants are very well preserved in shape, nevertheless they are killed at least by the mixed up Hg-compound. (Table 6, figures 5, 6 and 7).

6. Epidemiological problems: A massive infection by dwarf bunt depends on a massive infestation of the soil by spores. Smutted wheat grains and wheat ears, infected host grasses, with spores infested, untreated seed act above all as infection source with more or less local character for regions with good crop rotation. So it is possible that the infection source is preserved, but no massive infection can start on regarding the relatively rapid degeneration of the greatest part of spores in the soil (e. g. 6 months). So the probability for infection is only small. Infested straw as carrier of the disease seems to have a greater importance; brought with manure on the

fields in spring there is some possibility of heavier infestation of the soil and infection in autumn. The wind seems to be the most dangerous agent for infestation carrying the spores from threshing places or combine harvesters just in the right moment into fields. In our most infested regions the highest infection-rates occur in the neighbourhood of threshing places, along the borders of forests, along hedges, avenues, houses, walls, on wind exposed places and so on. The soil infestation seems to follow the same laws as the wind borne diseases.

Literaturverzeichnis

Böning, K., 1954: Findet eine Infektion durch Zwergbrand auch noch nach Winter statt? Z. f. Pfl.bau u. Pfl.schutz **5**, 187—188.

— —, 1955: Zur Frage der Nachwinterinfektion durch Zwergbrand. Z. f. Pfl.bau u. Pfl.schutz **6**, 207—209.

Fischer, G. W., 1952: *Tilletia brevifaciens* sp. nov., causing dwarf bunt of wheat and certain grasses. Res. Stud. State Coll. Wash. **20**, 11—14.

Gassner, G., und E. Niemann, 1954: Untersuchungen über die Temperatur- und Lichtabhängigkeit der Sporenkeimung verschiedener *Tilletia*-Arten. Phytopath. Z. **21**, 367—394.

— —, und — —, 1955: Synergistische und antagonistische Wirkung von Pilzen und Bakterien auf die Sporenkeimung verschiedener *Tilletia*-Arten. Phytopath. Z. **23**, 395—418.

Gassner, G. G., 1953: Untersuchungen über Keimungsbedingungen und Bekämpfungsmöglichkeiten beim Zwergsteinbrand (*Tilletia brevifaciens*) im Laboratorium. Phytopath. Z. **21**, 53—62.

Holton, C. S., R. H. Bamberg and R. W. Woodward, 1949: Progress in the study of dwarf bunt of winter wheat in the Pacific Northwest. Phytopathology **39**, 986—1000.

Kobel, F., 1956: Zur Nomenklatur des Zwergbranderregers. Phytopath. Z. **26**, 31—34.

Meiners, J. P., 1955: Preliminary report on cross inoculations with dwarf bunt on wheat and grasses. Pl. Dis. Reporter **39**, 161—162.

— —, 1956: Transfer of dwarf bunt from wheat to slender wheat grass and from rye to wheat. Pl. Dis. Reporter **40**, 347—348.

— —, J. T. Waldher, J. R. Hardison, and H. S. Fenwick, 1956: Additions to the host range of dwarf bunt. Pl. Dis. Reporter **40**, 26—27.

Niemann, E., 1956 a: Stimulationswirkung von Düngemitteln und quecksilberhaltigen Beizmitteln auf die Sporenkeimung des Zwergbrandes (*Tilletia controversa* Kühn). Angew. Bot. **30**, 1—13.

— —, 1956 b: Taxonomie und Keimungsphysiologie der *Tilletia*-Arten von Getreide und Wildgräsern. Phytopath. Z. **28**, 113—166.

— —, 1957: Stimulationswirkung von Quecksilberverbindungen auf die Sporenkeimung des Zwergbrandes. Angew. Bot. **31**, 191—196.

Tyler, L. J., 1953: Survival of chlamydospores of *Tilletia brevifaciens*, G. W. Fischer, exposed outdoors on soil. Phytopathology **43**, 487 (Abstr.).

Wagner, F., 1952: Neuere Ergebnisse zur Bekämpfung des Zwergsteinbrandes. Z. f. Pfl.bau u. Pfl.schutz **3**, 84—89.

— —, 1953: Versuche zur Bekämpfung des Zwergbrandes an Weizen mit verschiedenen Bodenbehandlungsmitteln und Verfahren. Z. f. Pfl.bau u. Pfl.schutz **4**, 145—151.

Warmbrunn, K., 1952: Untersuchungen über den Zwergsteinbrand. Phytopath. Z. **19**, 441—482.

Zogg, H., und F. Kobel, 1954: Der Zwergbrand, eine neue, gefährliche Weizenkrankheit. Mitt. f. d. Schweiz. Landwirtschaft, Jg. **2**, 92—96.

From the Research Institute for Plant Protection Budapest, Hungary
Director: Dr. G. Ubrizsy

On the Role of Phenoloxidase Activity in the Hypersensitive Reaction of Wheat Varieties Infected with Stem Rust

By

Z. Király

The hypersensitive reaction of some plant species and varieties is the most characteristic form of defence reactions to infectious pathogens in the plant kingdom. Recently, data are accumulating to show the eminent role of phenol-accumulation and a higher activity of polyphenoloxidases in infected host plants exhibiting the hyperergic response to infection. (As to this question see the reviews of Farkas and Király 1958, and Király and Farkas 1958.)

Newton and Anderson (1929) and Kargopolova (1936) formerly demonstrated, that wheat varieties resistant to stem rust and leaf rust contain higher amounts of phenolic compounds than the susceptible ones. However, the inadequate methods of these early works could not produce convincing results. Moreover, Waygood's (1957) and our own experiments (Király and Farkas 1957) on healthy and rust infected wheat varieties, failed to detect any activity of phenoloxidase enzymes in leaf tissues. In our former experiments, however, we have used only one substrate (catechol-hydroquinone system) for the demonstration of enzyme activity.

The aim of the present experiments was to show the presence of polyphenoloxidase activity in some healthy and infected susceptible (variety R. 23.) and resistant (*Triticum timopheevi*, *Triticum monococcum* var. Einkorn, *Triticum dicoccum* var. Khapli) wheats.

Wheat seedlings were grown under ordinary greenhouse conditions and inoculated in the 2-leaf stage with urediospores of race 21 of the stem rust fungus (*Puccinia graminis* Pers. var. *tritici* [Eriks et E. Henn] Guyot). Enzyme activity was measured by conventional Warburg-technique, partly in the end of disease development (14—16 days after the appearance of the first symptoms), partly in the early days of infection (5—7 days after inoculation). Autoxidation and trace-element catalysis of substrates was

estimated by use of boiled controls. The data in the Tables have been corrected for autoxidation values and represent the mean value of six experiments with three parallels. As may be seen from the Tables gallic acid as a substrate is more suitable for the demonstration of phenoloxidase activity in wheat tissues than the catechol-hydroquinone system.

The experimental data obtained show, that we could not find phenoloxidase activity in susceptible, healthy leaf tissues (Table 1). On the other hand, using gallic acid as a substrate, a considerable activity of this enzyme was detected in resistant, healthy wheats.

Table 1

Phenoloxidase activity in susceptible and resistant healthy wheat leaves

Enzyme activity is expressed as the increase in oxygen uptake upon addition of substrates (0.5 percent gallic acid or 0.02 percent catechol plus 0.6 percent hydroquinone) in cubic millimeters of oxygen per mg dry weight of tissue homogenate, per hour.

Wheat variety	Without substrate	Phenoloxidase activity	
		gallic acid substrate	catechol-hydroquinone substrate
R. 23	2.5	2.5	2.4
Triticum monococcum var. Einkorn	2.8	4.0	—
Triticum dicoccum var. Khapli	2.8	4.1	—
Triticum timopheevi	3.4	6.0	3.4

As a result of infection, a definite enzyme activity appears in the susceptible variety at the end of disease development, which is demonstrated by adding gallic acid but not catechol as a substrate (Table 2). In the early stages of the disease (5—7 days after infection) the phenoloxidase enzyme was not activated.

In the infected leaf tissues of resistant varieties, which exhibit the typical hypersensitive defence reaction, a higher phenoloxidase activity exists. The same results were obtained by using either gallic acid or catechol as substrates.

It may be seen from these results that rust infection induces the oxidation of phenolic compounds both in susceptible and resistant types of wheat, but in the case of susceptible wheat the presence of this enzyme activity is detected only in the last stage of disease development. It is noteworthy, that LEDINGHAM and co-workers (VAN SUMERE et al. 1958), recently delivered some findings, closely related to our results. According to the above authors the urediospores of stem rust fungus contain several phenolic compounds and more recently FARKAS and LEDINGHAM (1959) detected polyphenoloxidase activity in extracts of stem rust urediospores. These observations seem to give an explanation for the phenol-phenoloxidase reaction in infected host

leaf tissues. However, by the use of gallic acid as substrate, one can also detect phenolase enzyme in healthy resistant wheats, and resistant types after infection have a higher enzyme activity than susceptible ones.

Table 2

Phenoloxidase activity in susceptible and resistant wheat leaves infected with stem rust (*Puccinia graminis* var. *tritici*)

Enzyme activity is expressed as the increase in oxygen uptake upon addition of substrates (0.5 percent gallic acid or 0.02 percent catechol plus 0.6 percent hydroquinone) in cubic millimeters of oxygen per mg dry weight of tissue homogenate, per hour.

The activity is measured a) 5—7 days after the inoculation or
b) at the end of the disease development.

Wheat variety	Without substrate	Phenoloxidase activity	
		gallic acid substrate	catechol-hydroquinone substrate
R. 23 a)	3.8	3.8	—
R. 23 b)	4.7	5.8	4.5
Triticum dicoccum var. Khapli b)	3.4	6.3	5.3
Triticum timopheevi b)	4.0	—	5.5

Brown discoloration of infected hypersensitive plants often may be associated with accumulation of polyphenol oxidation products (quinones) which by subsequent reactions give rise to melanin-like bodies. These latter compounds might be toxic, kill the cells and make necroses (Szent-Györgyi and Vietorisz 1931). Since treatment of cider apple tissue with the reducing compound glutathione, prevented browning and also reduced host resistance possibly by reduction of polyphenol oxidation products (Byrde 1957), it seems reasonable to suppose that reducing agents (ascorbic acid, glutathione and other thiol compounds) and also the activity of quinone reductase enzyme (Wosilait and Nason 1954) also may play a role in the regulation of accumulation of the phenol oxidation products and development of hyperergic, necrogen reaction.

The results reported provide evidence for the idea that the hypersensitive reaction of rust resistant wheat varieties is associated with the activity of polyphenol-phenoloxidase system.

Zusammenfassung

Bei der Abwehr von Infektionen scheinen Phenoloxydasen eine Rolle zu spielen. Weder in gesunden noch in rostbefallenen Blättern von Weizenkeimlingen (*Puccinia graminis* Pers. var. *tritici* [Eriks et E. Henn] Guyot) gelang es bisher, eine Phenoloxydase-Aktivität festzustellen, sofern Hydrochinon plus Brenzkatechin als Substrat diente. Verwendet man hingegen Gallussäure, so zeigen gesunde resistente Weizensorten eine Aktivität, ge-

sunde anfällige jedoch keine. In infizierten Blättern sowohl resistenter wie anfälliger Sorten läßt sich eine zunehmende Aktivität nachweisen; bei anfälligen Sorten erst, nachdem sich die Krankheit voll entwickelt hat und nicht in demselben Maß wie bei den resistenten.

Der Autor weist auf die Möglichkeit hin, Produkte der Reaktionsschritte vom oxydierten Phenol, dem Chinon, zu Melanin-ähnlichen Stoffen könnten für die Abwehrreaktion verantwortlich sein.

Literature cited

Byrde, R. J. W., 1957: The varietal resistance of fruits to brown rot. II. The nature of resistance in some varieties of cider apples. J. Horticult. Sci. **32**, 227—238.

Farkas, G. L., and Z. Király, 1958: Enzymological aspects of plant diseases. I. Oxidative enzymes. Phytopath. Z. **31**, 251—272.

— —, and G. A. Ledingham, 1959: Studies on the polyphenol-polyphenoloxidase system of wheat stem rust uredospores. Canad. J. Microbiol. In press.

Kargopolova, N. N., 1936: Phenolic compounds in wheat in relation to their resistance to *Puccinia triticina*. Summ. Sci. Res. Work Inst. Pl. Prot. Leningrad. 1935. 491—492.

Király, Z., and G. L. Farkas, 1957: On the role of ascorbic oxidase in the parasitically increased respiration of wheat. Arch. Biochem. Biophys. **66**, 474—485.

— —, and — —, 1958: Biochemical trends in plant pathology. Phytopath. Z. **34**, 341—364.

Newton, R., and J. A. Anderson, 1929: Studies on the nature of rust resistance in wheat. IV. Phenolic compounds of the wheat plant. Canad. J. Res. **1**, 86—99.

Szent-Györgyi, A., und K. Vietorisz, 1931: Bemerkungen über die Funktion und Bedeutung der Polyphenoloxidase der Kartoffeln. Biochem. Z. **233**, 236—239.

Van Sumere, C. F., C. Van Sumere-de Preter, L. C. Vining, and G. A. Ledingham, 1957: Coumarins and phenolic acids in the uredospores of wheat stem rust. Canad. J. Microbiol. **3**, 847—862.

Wosilait, W. D., and A. Nason, 1954: Pyridine nucleotide-quinone reductase. I. Purification and properties of the enzyme from pea seeds. J. Biol. Chem. **206**, 255—270.

Waygood, E. R., 1950: Physiological and biochemical studies in plant metabolism. II. Respiratory enzymes in wheat. Canad. J. Res. C. **28**, 7—62.

Aus der Forstlichen Versuchsanstalt „De Dorschkamp", Wageningen, Niederlande

Über zwei Phacidiaceae von *Pinus silvestris* L.

Von

J. Gremmen

Mit einer Abbildung

Auf toten Schneebruchästen der gemeinen Kiefer (*Pinus silvestris* L.) fand ich unlängst in größerer Zahl die Apothecien eines Discomyceten. Diese zeigten einen dem *Phacidium lacerum* Fr. ähnlichen Bau, unterschieden sich aber in manchen Merkmalen erheblich. Daneben wuchsen auch die Fruchtkörper einer Konidienform, deren Bestimmung *Phomopsis pseudotsugae* Wils. ergab. Hahn (1957) hat für diesen Pilz nachgewiesen, daß er in den Entwicklungskreis der *Phacidiella coniferarum* Hahn gehört und es sich keinesfalls um eine *Phomopsis* handeln kann. Er nannte den Pilz deshalb *Phacidiopycnis pseudotsugae* (Wils.) Hahn, was allerdings deshalb überflüssig erscheint, weil ja die Hauptfruchtform bekannt ist.

Diese *Phacidiopycnis*-Nebenfruchtform ist schon von Wilson (1920) beschrieben worden, und zwar deshalb als *Phomopsis*, weil der Autor annahm, es handle sich um die Nebenfruchtform einer *Diaporthe*. Hahn (1930) stellte fest, daß die Hauptfruchtform keinesfalls *Diaporthe conorum* (Desm.) Niessl (= *Diaporthe pitya* Sacc.) sein könne.

Seit etwa zehn Jahren habe ich mich ebenfalls mit *Phomopsis pseudotsugae* Wils. befaßt. Es war mir dabei stets klar, daß diesem Pilz eine besondere Stellung zukomme. In Reinkultur bildet er ein charakteristisches graubraunes Myzel, in dem später Pyknidien gebildet werden, in denen kleine, ellipsoidische Sporen, ähnlich den alpha-Konidien von *Phomopsis* entstehen. Hingegen unterbleibt die Bildung von beta-Konidien. Bei den echten *Phomopsis*-Arten (Nebenfruchtformen von *Diaporthe)* werden weiße, netzartige Myzelien beobachtet, die nie braun werden und in den Pyknidien zweierlei Konidien bilden.

Im Laufe meiner Untersuchungen ergab es sich auch, daß *Phomopsis pseudotsugae* nicht nur als Parasit auf japanischen Lärchen und Douglasien lebt, sondern auch als harmloser Parasit an toten Zweigen verschiedener anderer Nadelhölzer vorkommt. In der Umgebung von Wageningen ist der Pilz

besonders häufig auf Kieferästen, welche beim Fällen abgeschlagen worden sind und zurückbleiben. Von hier aus kann der Pilz leicht wiederum japanische Lärchen und Douglasien infizieren. Wie experimentell festgestellt wurde (VAN VLOTEN 1952) ist die Periode Oktober bis März die gefährlichste Zeit für die Infektion. In unserem Lande kann der Pilz unter Umständen ernste Schäden verursachen.

Mit Hilfe von Reinkulturen konnte ich die Ergebnisse von HAHN (1957), wonach *Phomopsis pseudotsugae* in den Entwicklungskreis von *Phacidiella coniferarum* Hahn gehöre, bestätigen und gleichzeitig auch den obengenannten Discomyceten als diese Art bestimmen. Da unter Umständen mit *Phacidium lacerum* Fr. eine Verwechslungsmöglichkeit besteht, seien hier beide Pilze beschrieben. Die Pilze sind auch in Reinkultur miteinander verglichen worden. Bei beiden Arten keimen die Ascosporen rasch aus. Anfangs sind die Myzelien farblos, dann bräunen sie sich allmählich, wobei *Phacidium lacerum* zwei- bis dreimal so schnell wächst wie *Phacidiella coniferarum,* die sich durch einen unregelmäßigen Randsaum der Kolonie auszeichnet. Nach etwa zwei Wochen ähneln sich die beiden Pilze aber wiederum stark und können nur noch mit Hilfe der nunmehr gebildeten Konidienformen sicher unterschieden werden; *Phacidiella coniferarum* bildet den *Phacidiopycnis*-Typ, *Phacidium lacerum* dagegen *Ceuthospora.*

1. *Phacidiella coniferarum* Hahn (Mycologia **49**, 227, 1957)

Nebenfruchtform: *Phacidiopycnis pseudotsugae* (Wils.) Hahn — Mycologia **49**, 230 (1957) [Syn.: *Phomopsis pseudotsugae* Wils. — Bot. Soc. Edinb. Transact. **28**, 27—49 (1920)]. Reinkultur Nr. 272.

Apothecien unter dem Periderm gebildet, 500—1000 μ im Durchmesser. Hymenium rund, schwarz oder olivenbraun, bei der Reife das Periderm zerreißend und dann von vier bis sechs Peridermlappen umgeben. Stratum tectricum 90 bis 160 μ dick, dunkelbraun, mit direkt unter dem Periderm liegender Oberseite (Abb. 1 c) und mit einer etwa 20 μ lange, farblose, stalaktitartige Zellen (interasciculäre Hyphen) tragenden Unterseite. Hymenium über einem stromaartigen, 200 μ dicken, dunkelbraunen, plektenchymatischen Gewebe; Hypothecium fehlend. Asci 105—115 (145) $\times$ 11—12 μ, achtsporig. Ascosporen (Abb. 1 g) (13,5) 14,5—15 (16) $\times$ 5,5—6 μ groß, einzellig, farblos, ellipsoidisch oder etwas gebogen und gefüllt mit kleinen Plasmatröpfchen. Paraphysen die Asci überragend, farblos, fadenförmig, ungefähr 2 μ dick mit bis 4 μ verdicktem oberen Ende.

Pyknidien (Abb. 1 d) 300—500 μ groß, ein- oder mehrkammerig, linsen- oder kugelförmig, ohne Porus. Wand 20—25 μ dick, dunkelbraun oder schwarz. Konidienträger bis 10 μ lang, farblos. Konidien (Abb. 1 h) 5,5—7,5 $\times$ 3 μ, farblos, einzellig, ellipsoidisch, in Masse milchweiß.

2. *Phacidium lacerum* Fr. (Obs. myc. **2**, 313, 1818)

Fundorte: „Oostereng", Wageningen (Niederlande), auf toten, am Boden liegenden, dicken Ästen von *Pinus silvestris* L., 28. 9. 1958 (GREMMEN, Nr. 1524, 1527 und 1528: Hauptfruchtform; 1526: Nebenfruchtform); „De Dorschkamp", Wageningen (Nieder-

lande), auf toten Ästen von *Pinus silvestris* L., 10. 10. 1958 (GREMMEN 1556: Hauptfruchtform).

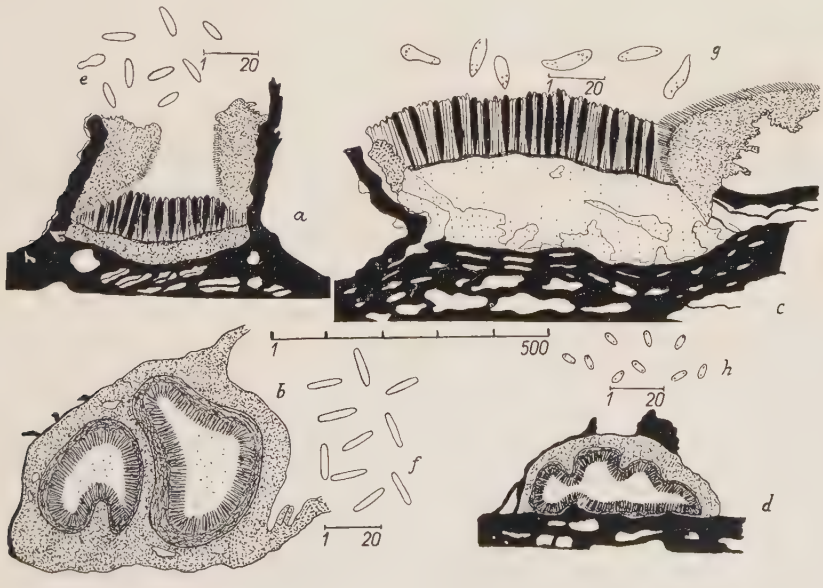
Nebenfruchtform: *Ceuthospora pinastri* (Fr.) v. Höhn. — Mitt. Bot. Inst. Techn. Hochsch. Wien **2** (4), 99—109 (1925) [Syn.: *Dothiorella pinastri* (Fr.) Sacc. — Syll. **3**, 241 (1884)].

Reinkultur Nr. 250.

Apothecien (Abb. a) unter dem Hypoderm gebildet, 300—600 μ im Durchmesser mit rundem, schwarzem oder schokoladebraunem Hymenium, welches bei der Reife das Hypoderm zerreißt und von dessen Resten lappig eingefaßt wird. Stratum tectricum 75—95 μ dick, dunkelbraun; Oberseite direkt unter dem Hypoderm, Unterseite mit stalaktitartigen Ausläufern (interasciculäre Hyphen). Stroma fehlend. Stratum basalum 20—30 μ dick, dunkelbraun und ohne deutliches Hypothecium. Asci 73—85 × 7,5—8,5 μ, achtsporig. Ascosporen (Abb. e) 9—11,5 × 3—4 μ, einzellig, farblos, ellipsoidisch. Paraphysen farblos, fadenförmig.

Pyknidien (Abb. b) 500—750 μ groß, ein- oder mehrkammerig, rund, oft zu mehreren zusammengewachsen, ohne deutlichen Porus. Wand 40—60 μ dick, dunkelbraun. Konidienträger bis 20 μ lang, farblos. Konidien (Abb. f) 11,5—13,5 (15,5) × (2) 3—3,5 μ, farblos, einzellig, stäbchenförmig, mit abgerundeten Enden, in Masse milchweiß.

Fundort: „Remmerstein", Rhenen (Niederlande), auf toten, am Boden liegenden Nadeln von *Pinus silvestris* L., 9. 3. 1957 (GREMMEN 1344: Hauptfruchtform; 1484: Nebenfruchtform aus Reinkultur).



Phacidium lacerum a) Schnitt durch ein Apothecium (schematisiert), b) Schnitt durch ein Pyknidium (schematisiert), e) Ascosporen, f) Konidien. *Phacidiella coniferarum,* c) Schnitt durch ein Apothecium (schematisiert), d) Schnitt durch ein Pyknidium (schematisiert), g) Ascosporen, h) Konidien

Zusammenfassung

Der kürzlich in Amerika beschriebene *Phacidiella coniferarum* Hahn, welche Hauptfruchtform der schon länger bekannten *Phomopsis pseudotsugae* Wilson ist, wurde nun auch in Europa nachgewiesen. Die beiden Arten *Phacidium lacerum* Fr. und *Phacidiella coniferarum* Hahn, welche beide auf *Pinus silvestris* L. vorkommen können, werden miteinander verglichen und ihre Verschiedenheiten herausgeschält.

Summary

Two phacidiaceous fungi both occurring on *Pinus sylvestris* in The Netherlands are mentioned in this short paper.

Apothecia of *Phacidiella coniferarum* Hahn — sometimes accompanied by the imperfect stage — were collected in late autumn on thick, fallen down branches of Scotch pine killed by heavy snow breakage during wintertime 1957—1958. This is the first report of the apothecial-stage in Europe and it represents the perfect form of the fungus *Phomopsis pseudotsugae* Wilson, now correctly named *Phacidiopycnis pseudotsugae* (Wils.) Hahn. This fungus is the cause of a serious bark disease (dieback) of Japanese larch and Douglas fir, which was also investigated in detail in The Netherlands (cf. VAN VLOTEN 1952).

Apothecia of *Phacidium lacerum* Fr. were found in early spring on dead, fallen down needles of Scotch pine. So far as known this Discomycete behaves saprophytically. Since apothecia of both fungi are rather similar they are compared here.

Both organisms have been cultured by means of ascospores and pycnospores. Brown-coloured mycelia and mature pycnidia have been developed in vitro. *Phacidium lacerum* is growing faster than *Phacidiella coniferarum* and the first produces a pycnidial-stage identical with *Ceuthospora pinastri* (Fr.) v. Höhn. *Phacidiella coniferarum* develops a colony in vitro with a characteristic irregular-lobed margin and is connected with the imperfect stage, *Phacidiopycnis pseudotsugae* (Wils.) Hahn. Both apothecial — and pycnidial — stages are described and figured.

Literaturverzeichnis

HAHN, G. G., 1930: Life-history studies of the species of *Phomopsis* occurring on Conifers, Part I. Transact. Brit. myc. soc. **15** (1/2), 32—93.

— —, 1957: A new species of *Phacidiella* causing the so-called *Phomopsis* disease of conifers. Mycologia **49**, 226—239.

VLOTEN, H. VAN, 1952: Evidence of host-parasite relations by experiments with *Phomopsis pseudotsugae* Wilson. Scott. For. **6** (2), 38—46.

WILSON, M., 1920: A new species of *Phomopsis* parasitic on Douglas fir. Bot. soc. Edinb. Trans. **28**, 47—49.

Aus der Biologischen Zentralanstalt der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin, Institut für Phytopathologie Aschersleben

Untersuchungen über die Anthraknose des Hanfes (*Cannabis sativa* L.)

Von

G. M. Hoffmann

Mit 21 Abbildungen

Inhalt: A. Einleitung. — B. Das Krankheitsbild. — C. Geographische Verbreitung der Anthraknose. — D. Wirtschaftliche Bedeutung. — E. Untersuchungen über den Erreger der Hanfanthraknose. I. Isolierungsversuche; II. Morphologische Untersuchungen; 1. Sporenform und Sporengröße, 2. Form und Größe der Acervuli und Sklerotien; III. Physiologische Untersuchungen; 1. Konidienkeimung, 2. Das Wachstum auf verschiedenen Medien, 3. Der Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration des Nährsubstrates auf das Wachstum und die Sklerotienbildung, 4. Der Einfluß der Temperatur auf das Wachstum; IV. Infektionsversuche; 1. Infektionsversuche an Hanfsämlingen, 2. Infektionsversuche an abgeschnittenen Pflanzen, 3. Infektionsversuche unter Freilandbedingungen, 4. Infektionsversuche unter Gewächshausbedingungen, 5. Infektionsversuche an Tomatenjungpflanzen, 6. Infektionsversuche an Tomatenfrüchten, 7. Infektionsversuche an Kartoffelpflanzen; V. Untersuchungen zur Biologie des Erregers; 1. Die Übertragbarkeit mit dem Saatgut, 2. Die Überwinterung auf Pflanzenresten und im Boden. — Diskussion. — Zusammenfassung. — Summary. — Literaturverzeichnis.

A. Einleitung

Der Hanf ist neben dem Flachs die wichtigste heimische Faserpflanze. Sein Anbau hat seit ungefähr zwei Jahrzehnten in Deutschland wesentlich zugenommen und konzentriert sich heute auf den Moorböden in Bayern, Brandenburg und Mecklenburg. Darüber hinaus sind seit einiger Zeit Bestrebungen im Gange, den Hanf auch auf Mineralböden anzubauen, da hierdurch Ertragssteigerungen, insbesondere aber eine Verbesserung der Faserqualität möglich sind. Seit mehreren Jahren beobachten wir in Brandenburg und Mecklenburg das Auftreten einer bisher unbekannten Krankheit des Hanfes, die als Hanfanthraknose (Hoffmann 1958) bezeichnet wurde. In den witterungsungünstigen Jahren 1955 bis 1957 kam es verschiedentlich zu starken Ertrags- und Qualitätsminderungen, die die Rentabilität des Hanfanbaues

mancherorts in Frage stellten. Die vorliegenden Untersuchungen sind ein Beitrag zur Klärung der Ätiologie der Hanfanthraknose und zur Biologie des Erregers.

B. Das Krankheitsbild

Kurz nach der Blüte beobachtet man, zunächst meist nur auf den männlichen Pflanzen, hell- bis mittelbraune vereinzelte oder ineinander übergehende Flecke, die in der Längsrichtung streifig angeordnet sind. Später entwickeln sich auf diesem verfärbten Gewebe punktartige blaugraue Pusteln, die sich langsam vergrößern, zusammenfließen und größere Partien des Stengels einnehmen. Sie treten vom Stengelgrund bis zu den Infloreszenzen auf und können sich in kurzer Zeit über die ganze Pflanze erstrecken (Abb. 1). Die unterirdischen Pflanzenteile bleiben stets befallsfrei. Bei geringer mikroskopischer Vergrößerung erkennt man auf den Stengelflecken meist zahlreiche, anfangs

Abb. 1. Verschiedene Stadien der Anthraknose des Hanfes

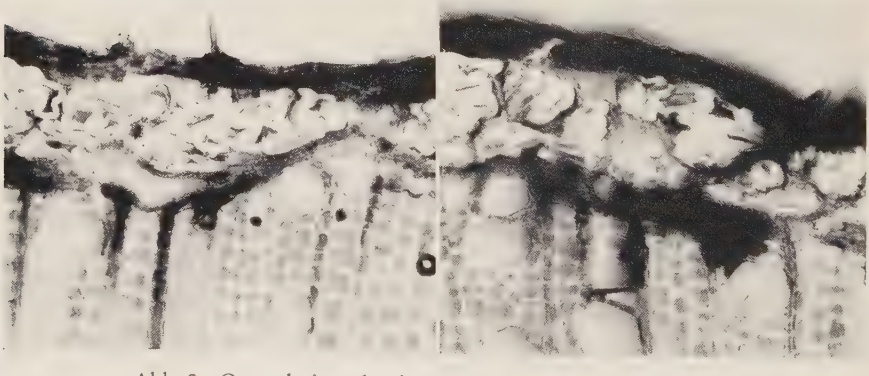


Abb. 2. Querschnitte durch anthraknosekranke Hanfstengel

hyaline, später dunkelgefärbte, oft mit Borsten besetzte Sklerotien, die Acervuli eines Pilzes. Meist wird das sklerotiale Stroma in der Epidermis angelegt, und die Acervuli brechen bei der Reife hervor. Das befallene Gewebe erscheint anfangs oft silbergrau. Die Ausbildung der Symptome ist abhängig vom Reifegrad der Pflanzen zur Zeit der Infektion. An Stengelquerschnitten ließ sich beobachten, daß das sklerotiale Myzel des Pilzes nicht auf die Epidermis beschränkt bleibt, sondern das Rindenparenchym durchwuchert, sich innerhalb der Faserbündel und -zellen ausbreitet und auf den Holzteil übergeht. In den Markstrahlen dringt der Parasit bis in das Lumen vor. Die Faserzellen werden aus dem Gewebeverband gelöst, stark deformiert und zeigen durch Rißbildung Anzeichen einer Degeneration (Abb. 2).

C. Geographische Verbreitung

Die Hanfanthraknose wurde erstmalig im Herbst 1955 auf den Fleethofer Wiesen (Kreis Friedland, Mecklenburg) beobachtet. Weitere Ermittlungen ergaben, daß darüber hinaus in Mecklenburg die Kreise Uckermünde, Pasewalk und Prenzlau betroffen wurden. Ein zweites Zentrum liegt im Havelländischen Luch (Kreis Nauen) und geht auf die Kreisgebiete von Oranienburg und Neuruppin über. In Einzelfällen wurde die Hanfanthraknose auch in der Altmark (Kreise Seehausen, Salzwedel, Kalbe, Klötze und Gardelegen) beobachtet. Es handelt sich hierbei fast ausschließlich um Niederungsmoorböden, auf dem der „Havelländische Hanf" gebaut wird. Auf Mineralböden sind bisher keine derartigen Schädigungen beobachtet worden.

D. Wirtschaftliche Bedeutung

Die Anthraknose des Hanfes ist im Freiland in starkem Umfange erst nach der Blüte beobachtet worden. Damit wird erklärlich, daß der Gesamtertrag nicht sichtbar durch die Erkrankung herabgesetzt wird. Die bisher bekannt gewordenen Schäden beziehen sich in erster Linie auf Faserausbeute und -qualität. Nach den Angaben verschiedener Hanfrösten löst sich die Faser teilweise schlecht von den sie umgebenden Gewebeteilen und besitzt keine Haltbarkeit, so daß der spinnfähige Anteil der Ausbeute stark herabgesetzt ist. Bei starkem Strohbefall ist eine weitere Verarbeitung nicht möglich. Damit waren in den letzten Jahren die Erträge größerer Flächen unverkäuflich und wertlos. Der Hanfanthraknose kommt daher in den betroffenen Gebieten eine große wirtschaftliche Bedeutung zu.

E. Untersuchungen über den Erreger der Hanfanthraknose

I. Isolierungsversuche

Zur Isolierung des vermeintlichen Erregers wurden ausgewählte stark befallene Stengelteile 24 Stunden in feuchte Kammern gebracht, einzelne Acervuli herauspräpariert, auf Agarplatten übertragen (Ausstrich) oder in

flüssigem Agar aufgeschwemmt und dann mit diesem in sterile Petrischalen gegossen. Als Nährboden wurde Kartoffeldextroseagar (pH 6) benutzt. Nach wenigen Tagen entwickelten sich in den bei 25 °C bebrüteten Schalen zahlreiche Kolonien eines Pilzes mit starker Neigung zur Sklerotienbildung. Auf den befallenen Stengelteilen waren häufig mit Borsten besetzte Acervuli beobachtet worden, welche auf einen zur Gattung *Colletotrichum* gehörenden Parasiten hindeuteten. Nach VON ARX (1957) bildet unter den *Colletotrichum*-Arten insbesondere *C. atramentarium* zahlreiche Sklerotien in künstlicher Kultur. Es lag die Vermutung nahe, daß es sich bei der Hanfisolation um einen Pilz der gleichen Art handelt. Zur Identifizierung wurde *Colletotrichum atramentarium* von abgestorbenen Kartoffelstengeln isoliert und zu Vergleichszwecken in die Untersuchungen einbezogen.

II. Morphologische Untersuchungen

1. Sporenform und Sporengröße

Die von Hanf isolierten *Colletotrichum*-Stämme bilden länglichovale, gerade oder nur schwach gekrümmte Konidien mit abgerundeten Enden. Sie enthalten ein granuliertes Plasma mit ein bis mehreren Vakuolen. In ihrer Form sind sie den Konidien von *Colletotrichum atramentarium* weitgehend ähnlich (Abb. 3). Die Ermittlung der Konidiengröße erfolgte an Material, welches auf verschiedenen Substraten gewachsen war. Zur Feststellung der Konidiengröße von *Colletotrichum atramentarium* wurde u. a. auf im Feld gesammelte befallene Kartoffelstengel zurückgegriffen, von denen ein Teil unter feuchten Bedingungen 24 Stunden bei 20 °C aufbewahrt wurde. In analoger Weise wurde mit erkranktem Hanfstroh verfahren. Darüber hinaus wurden einzelne Stämme von *Colletotrichum atramentarium* und der Hanfisolierung auf verschiedenen Substraten kultiviert. Die Ergebnisse der Konidienmessungen (Durchschnitt von 100 bis 200 Einzelmessungen) sind in Tabelle 1 zusammengefaßt.

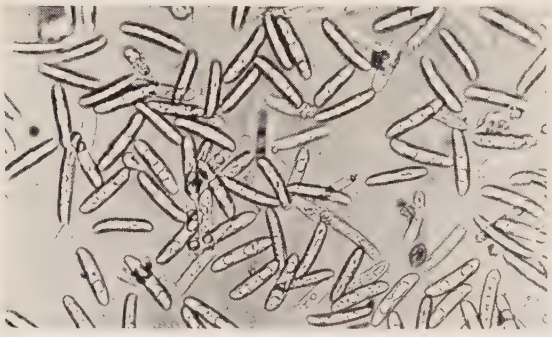


Abb. 3. Konidien des Erregers der Hanfanthraknose. Vergr. 600fach

Diese Zahlenangaben lassen erkennen, daß die Konidien des von Hanf isolierten *Colletotrichum* im Durchschnitt etwas größer als die von *C. atramentarium* (Kartoffelherkunft) sind. Letztere sind dafür gelegentlich etwas breiter. Die Konidienabmessungen der Hanfherkunft liegen durchaus in dem für *Colletotrichum atramentarium* von anderen Autoren festgestellten Bereich von 12—26 × 3—7,5 μ (SCHMIEDEKNECHT 1957). Es handelt sich hierbei jedoch um einen Stamm mit der Neigung zur Bildung größerer Konidien,

Tabelle 1

Die Konidiengröße

von *Colletotrichum atramentarium* (Kartoffelherkunft) und *Colletotrichum* spec. (Hanfherkunft) auf verschiedenen Substraten

Substrat	Länge in μ	Breite in μ
1. *Colletotrichum atramentarium* (Herkunft Kartoffel)		
Kartoffelstengel (Freiland)	18,5 ± 0,15	3,7 ± 0,03
Kartoffelstengel (Freiland), feucht inkubiert	20,1 ± 0,14	3,5 ± 0,01
Mit Reinkulturen beimpft:		
Hanfstengel unsteril	19,03 ± 0,15	3,52 ± 0,06
Hanfstengel steril	13,09 ± 0,27	3,89 ± 0,16
Tomatenstengel unsteril	18,26 ± 0,19	4,52 ± 0,05
Tomatenstengel steril	14,93 ± 0,36	4,0 ± 0,02
Luzernestengel steril	11,53 ± 0,2	2,91 ± 0,09
synthetischer Agar	15,3 ± 0,03	4,67 ± 0,05
2. *Colletotrichum* spec. (Herkunft Hanf)		
Hanfstengel (Freiland)	14,67 ± 0,29	3,53 ± 0,03
Hanfstengel (Freiland), feucht inkubiert	20,0 ± 0,14	3,86 ± 0,05
Mit Reinkulturen beimpft:		
Hanfstengel unsteril	19,8 ± 0,15	3,58 ± 0,04
Hanfstengel steril	18,4 ± 0,19	3,43 ± 0,08
Tomatenstengel unsteril	21,61 ± 0,18	3,73 ± 0,04
Tomatenstengel steril	20,68 ± 0,13	3,63 ± 0,03
Luzernestengel steril	19,72 ± 0,42	3,8 ± 0,03
synthetischer Agar	17,91 ± 0,23	4,25 ± 0,07

wie auch die Bereitwilligkeit zur Sporulation auf verschiedenen Nährsubstraten wesentlich stärker ausgeprägt war als bei *Colletotrichum atramentarium.* Die Ergebnisse weisen ferner den Einfluß des Substrates auf die Konidiengröße nach. In steriler Kultur blieben die Konidien meist kleiner als auf natürlichem, unsterilem Substrat. Schmiedeknecht (1956) schließt auf Grund der verschiedenen Konidiengrößen einzelner Stämme von *Colletotrichum atramentarium* auf das Vorliegen von Biotypen. Die angeführten Ergebnisse unterstützen diese Ansicht.

2. Form und Größe der Acervuli und Sklerotien

Auf den befallenen Hanfstengeln sind bei geringer Vergrößerung zahlreiche Sklerotien oder ausgebildete Acervuli des Erregers zu beobachten. Sie sind meist durch sklerotiales Myzel untereinander verbunden und liegen nur gelegentlich einzeln; letztere sind überwiegend oval. Die Größenmessungen wurden an im Freiland gesammeltem Material sowie an Reinkulturen der Isolationen durchgeführt. Als Nährböden kamen synthetischer Agar (1), Pepton-Glukose-Agar (2), Glukose-Asparagin-Agar (3) und Stärkeagar (4) zur Anwendung. In Tabelle 2 sind die Ergebnisse der Längen- und Breitenmessungen

(Durchschnittswerte von 100 Einzelmessungen) der Sklerotien angegeben. Ein Unterschied zwischen Acervuli und Sklerotien wurde bei der Ermittlung der Werte nicht gemacht.

Tabelle 2

Länge und Breite der Acervuli bzw. Sklerotien von *Colletotrichum atramentarium* (Kartoffelherkunft) und *Colletotrichum* spec. (Hanfherkunft)

Substrat	*Colletotrichum atramentarium* (Kartoffelherkunft)		*Colletotrichum* spec. (Hanfherkunft)	
	Länge in μ	Breite in μ	Länge in μ	Breite in μ
Kartoffelstengel (Freiland)	144,5 ± 6,28	103,4 ± 4,5	—	—
Hanfstengel (Freiland)	—	—	90,9 ± 0,5	73,3 ± 0,5
Nährboden 1	212,1 ± 4,84	182,1 ± 3,62	237,7 ± 6,49	220,4 ± 5,74
Nährboden 2	187,5 ± 3,16	173,6 ± 3,05	130,0 ± 5,07	118,3 ± 4,45
Nährboden 3	211,8 ± 9,86	142,8 ± 2,93	115,1 ± 2,90	107,2 ± 2,7
Nährboden 4	173,6 ± 3,17	155,6 ± 2,99	106,6 ± 2,56	97,5 ± 2,2

Die ermittelten Werte deuten auf die überwiegend ovale Form der Sklerotien hin. Das von Hanf isolierte *Colletotrichum* entwickelte überwiegend kleinere Einzelsklerotien als *C. atramentarium*, welche meist rasch ineinander übergingen und oft eine geschlossene Decke bildeten. Demgegenüber zeigte *C. atramentarium* fast immer Einzelsklerotienbildung. Die Sklerotiengröße ist weitgehend von der Art des Nährsubstrates abhängig. Größere Sklerotien wurden besonders auf Nährboden 1 gebildet. Obwohl zwischen den beiden Isolationen deutliche Verschiedenheiten in der Sklerotiengröße feststellbar waren, liegen die für die Hanfherkunft ermittelten Werte noch innerhalb des für *Colletotrichum atramentarium* von anderen Autoren festgestellten Größenbereiches (SCHMIEDEKNECHT 1957). Die geringe Größe der auf Hanfstengel gemessenen Sklerotien dürfte sich dadurch erklären, daß die Einzelsklerotien möglicherweise in ihrer Entwicklung durch ungünstige Umweltbedingungen gehemmt wurden. Meist findet man auf Hanfstengeln eine regelmäßige Stromakruste, bei der die Unterscheidung von Einzelsklerotien nicht möglich ist.

Die Ergebnisse der morphologischen Untersuchungen ließen erkennen, daß der von Hanf isolierte Parasit zu *Colletotrichum atramentarium* (Berk. et Br.) Taubenh. gestellt werden kann. Die beobachteten morphologischen Unterschiede deuten auf das Vorliegen eines anderen Biotypen hin.

III. Physiologische Untersuchungen

1. Konidienkeimung

Die Kenntnis über den Keimungsverlauf der Vermehrungsorgane parasitischer Pilze unter dem Einfluß bestimmter Umweltbedingungen gibt wichtige Anhaltspunkte für die Epidemiologie einer Krankheit. Über die Konidienkei-

mung von *Colletotrichum atramentarium* ist bisher wenig bekannt, so daß es notwendig erschien, insbesondere ihre Abhängigkeit von der Temperatur und dem pH-Wert des Mediums zu untersuchen. Darüber hinaus blieb festzustellen, ob sich die beiden Herkünfte des Erregers in ihrer Keimungsphysiologie unterscheiden.

Die Konidienkeimung wurde auf Deckgläsern in BÖTTCHERschen Kammern untersucht, wobei zunächst der Einfluß der Temperatur geprüft wurde. Dazu wurden mit einer feinen Kanüle auf Deckgläser kleine Tröpfchen einer Sporensuspension aufgetragen, mit diesen die BÖTTCHERschen Kammern verschlossen, welche in feuchtgehaltenen Glasschalen standen. Die Keimung der Konidien wurde in einem Reihenthermostaten bei 7, 15, 18, 20, 25, 30, 35 und 40 °C nach 16 Stunden beobachtet und die Keimungsrate ermittelt. In jeder Probe wurden meist 200 und mehr Konidien ausgezählt. Das Konidienmaterial entstammte gleich alten Kulturen von Luzernestengeln. Die Untersuchungen ergaben, daß beide Herkünfte innerhalb eines Temperaturbereiches von 25 bis 30 °C gut zu keimen vermögen, wobei sich um 25 °C ein deutliches Temperaturoptimum abzeichnete.

Weitere Konidienkeimversuche über den Temperatureinfluß, insbesondere über die Keimschnelligkeit der beiden Herkünfte führten zu den in Abbildung 4 dargestellten Ergebnissen. *Colletotrichum atramentarium* vermag bei 7 °C innerhalb von 24 Stunden nicht zu keimen. Eine wesentliche Verzögerung des Keimbeginns ist bei 20 und 30 °C gegenüber 25 °C zu beobachten. Bei 35 °C vermochte keine der beiden Herkünfte zu keimen.

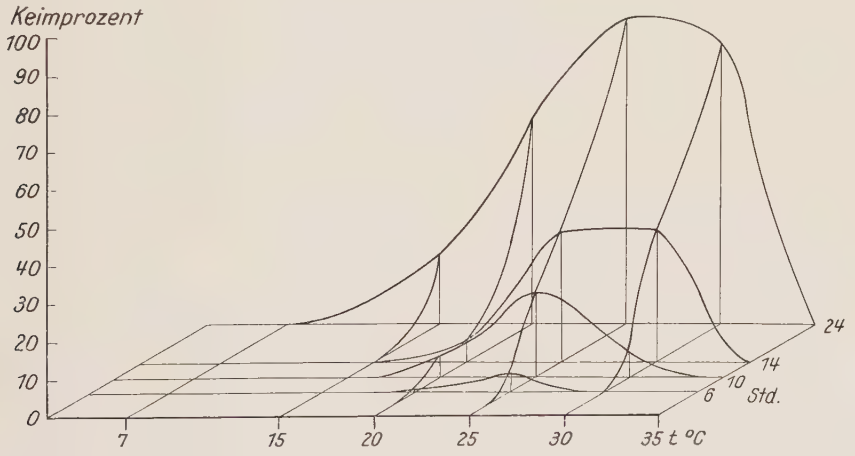


Abb. 4. Die Konidienkeimung von *Colletotrichum atramentarium* (Hanfherkunft) in Abhängigkeit von Temperatur und Zeit

Es ergibt sich aus der Abbildung, daß unter optimalen Temperaturbedingungen (25 °C) die Keimung nach 6 Stunden beginnt, bis zu 14 Stunden langsam ansteigt und dann innerhalb von weiteren 10 Stunden stark zunimmt. Unter günstigen Bedingungen sind nach 10 Stunden über 20 % der

Konidien gekeimt. Unterschiede in dem Keimungsverhalten der beiden Isolationen ließen sich bis auf eine verminderte Keimwilligkeit der Kartoffelherkunft nicht beobachten.

In methodisch ähnlicher Weise wurde der Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf die Konidienkeimung untersucht. Die Konidien der auf Luzernestengel wachsenden Isolationen von *Colletotrichum atramentarium* wurden in den nachstehend genannten Pufferlösungen suspendiert und anschließend in kleinen Tropfen auf die Deckgläser der BÖTTCHERschen Kammern übertragen:

Salzsäure (0,1 n) — Natriumcitrat . . . . . pH 2, 3, 4
prim. Kaliumphosphat — sek. Natriumphosphat pH 5, 6, 7, 8
Glykokoll — Natronlauge (0,1 n) . . . . . pH 9, 10

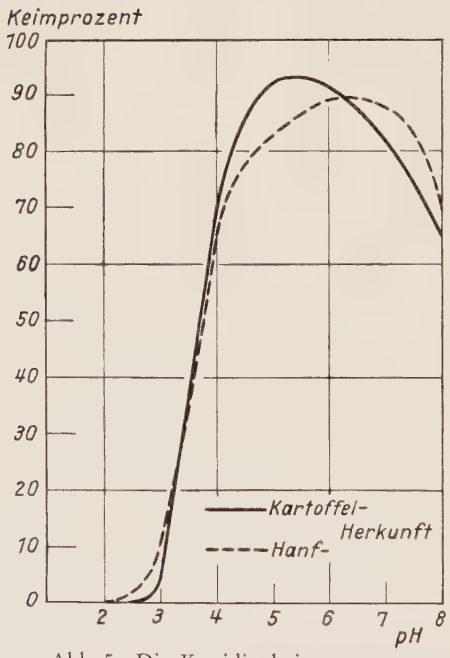


Abb. 5. Die Konidienkeimung von *Colletotrichum atramentarium* (Kartoffel-, Hanfherkunft) in Abhängigkeit von der H-Ionenkonzentration

Die einzelnen Pufferlösungen wurden kolorimetrisch nachgeprüft. Die Versuche wurden bei 25 °C durchgeführt und erstreckten sich über 16 Stunden. Die Ergebnisse eines mehrfach wiederholten Versuches sind in Abbildung 5 zusammengefaßt. Die beiden geprüften Stämme begannen mit ihrer Keimung bei pH 3. Die optimale Keimung lag zwischen pH 5 und 6. Im alkalischen Bereich ging die Keimwilligkeit, bezogen auf eine Prüfungsdauer von 16 Stunden, deutlich zurück. Zwischen den beiden Herkünften von *Colletotrichum atramentarium* ließen sich keine wesentlichen Unterschiede erkennen.

2. Das Wachstum auf verschiedenen Medien

Bei zahlreichen parasitischen Pilzen konnte man bisher durch Züchtung auf bestimmten Nährböden besondere Kulturrassen unterscheiden. Während der laufenden Kultur der beiden *Colletotrichum*-Herkünfte ließen sich deutliche Unterschiede in der Luftmyzel- und Sklerotienbildung beobachten. Diese Möglichkeit der Differenzierung der beiden Herkünfte wurde in den folgenden Versuchen näher untersucht.

Colletotrichum atramentarium wurde in Petrischalen auf folgenden Nährböden kultiviert: Stärkeagar (1), synthetischer Agar (2), Biomalzagar (3), Bierwürzeagar (4), Bohnendekoktagar (5), Melasseagar (6), Möhrensaft-

agar (7), Czapek-Dox-Agar (8). Die Nährmedien wurden mit einer Konidiensuspension mittels einer Öse in der Plattenmitte angeimpft. Die Versuche standen in fünffacher Wiederholung. In Abbildung 6 sind die durchschnittlichen Koloniendurchmesser nach einem 10tägigen Wachstum angegeben.

Die beiden Herkünfte unterschieden sich in der Koloniengröße nur unbedeutend voneinander. Auf den meisten Nährböden waren die Kolonien von gleicher Größe. Demgegenüber waren auffällige Unterschiede in der Entwicklung der Sklerotien und Konidien zu beobachten. Die Abbildung 7 zeigt die Sklerotienbildung auf Kartoffelsaft-, Bohnendekokt- und Czapek-Dox-Agar. Auf letzterem waren die Kolonien der Kartoffelherkunft fast vollkommen mit einzelnen kleinen, fest miteinander verbundenen Sklerotien bedeckt. Demgegenüber hatte die Hanfherkunft nur vereinzelt größere, oft streifig angeordnete Sklerotien gebildet. Dieser Unterschied wurde auch auf Biomalz-, Möhren- und Stärkeagar deutlich, wo die Kartoffelherkunft zahlreiche einzelnstehende kleine Sklerotien gebildet hatte, während die Hanfherkunft von *Colletotrichum atramentarium* meist sternförmig ausstrahlendes sklerotiales Stroma entwickelte.

Abb. 6. Die Wachstumsintensität von *Colletotrichum atramentarium* auf verschiedenen Nährböden

Zu erwähnen ist ferner die sehr unterschiedliche Neigung zur Konidienbildung. Die Hanfherkunft hatte auf fast allen Nährböden reichlich sporuliert, demgegenüber blieb die Konidienproduktion der Kartoffelherkunft nur gering. Dieser Unterschied war auch bei der fortlaufenden Kultivierung zu beobachten.

3. Der Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration des Nährsubstrates auf das Wachstum und die Sklerotienbildung

Die Entwicklung der Mikroorganismen wird weitgehend von der Wasserstoffionenkonzentration des Nährmediums bestimmt. Die folgenden Versuche mit beiden Herkünften wurden in Petrischalen auf Biomalzagar (3 %) durchgeführt. Nach der letzten Sterilisation wurden die einzelnen Partien des Nährbodens durch Zugabe von KOH bzw. H_3PO_4 auf die gewünschten pH-Werte eingestellt. Die Ermittlung des pH-Wertes erfolgte elektrometrisch mit einer Glaselektrode in den mit Aqua bidest. verdünnten Agarmedien (1 : 3). Der fertig eingestellte Nährboden wurde sofort zu je 20 ml in sterile Petrischalen abgefüllt und nach dem Erkalten mit einer Konidiensuspension (500 000 Konidien/ml) in der Mitte der Schale angeimpft. Die Bruttemperatur betrug 25 °C. Die quantitative Ermittlung des Wachstums und der Zuwachsraten erfolgten durch Messung der Koloniengröße nach 2, 7, 10 und 12 Tagen. Die in fünffacher Wiederholung durchgeführten Versuche brachten das in Abbildung 8 zusammengefaßte Ergebnis.

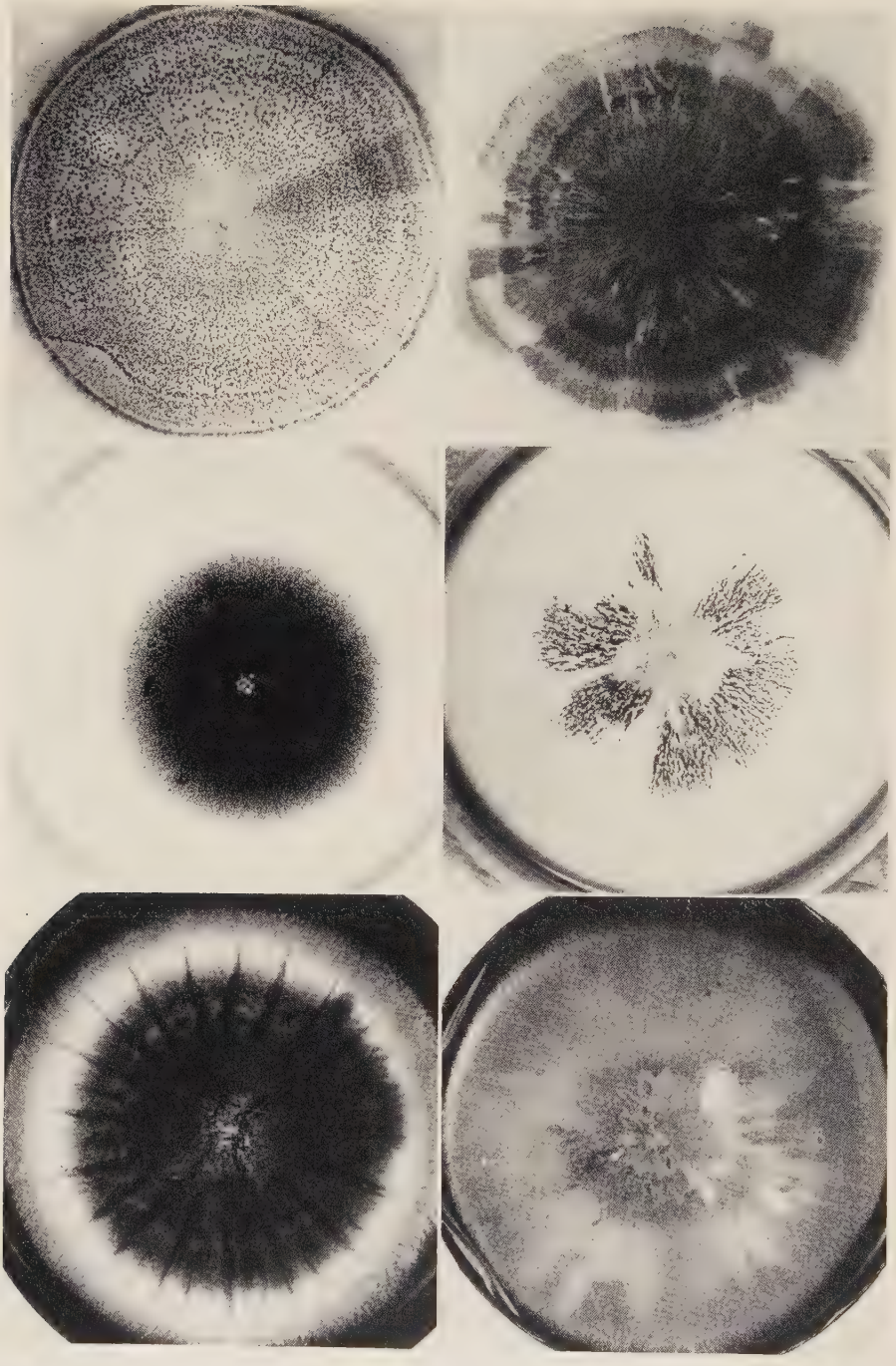


Abb. 7. Kolonienformen von *Colletotrichum atramentarium*. Kartoffelherkunft links, Hanfherkunft rechts; Nährboden von oben nach unten: Kartoffeldextrose Agar, Bohnendekokt Agar, Czapek-Dox-Agar

Die Kartoffelherkunft von *Colletotrichum atramentarium* begann ihre, wenn auch kümmerliche, Entwicklung bei pH 3,1. Noch bei pH 3,8 war eine deutliche Entwicklungsverzögerung feststellbar. Innerhalb eines pH-Bereiches von 4,8 bis 8,0 war die Koloniengröße in allen ermittelten Wachstumsstadien gleich. Weitgehend ähnlich verhielt sich die Hanfherkunft. Das Wachstum begann erst bei pH 3,8. Die Koloniendurchmesser nahmen bis pH 5,8 deutlich zu und blieben im neutralen und alkalischen Bereich etwas zurück. Ein deutliches Optimum zeichnete sich bei beiden Herkünften des Erregers nicht ab. Wenn dieses überhaupt vorhanden sein sollte, dürfte es um pH 6 liegen. In einem Wiederholungsversuch auf dem gleichen Nährboden bei weitgehend ähnlicher Abstufung der Wasserstoffionenkonzentration begannen beide Herkünfte von *Colletotrichum atramentarium* bei pH 4 zu wachsen. Das Wachstumsoptimum lag zwischen pH 6 und pH 7. Die Kartoffel- und Hanfher-

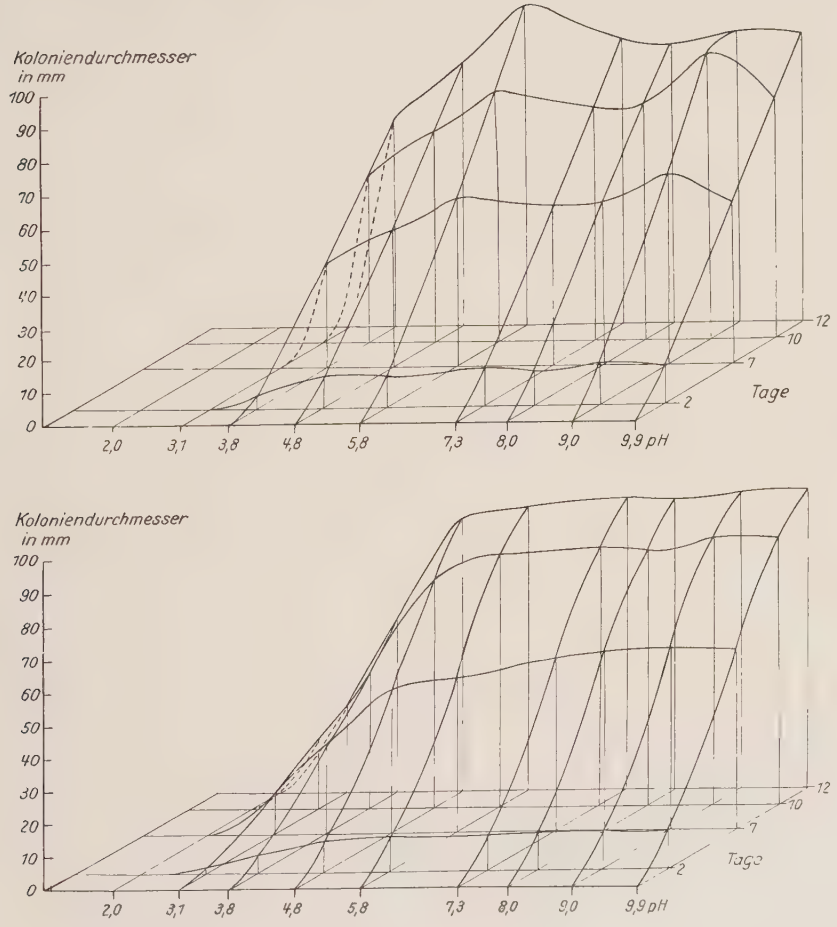


Abb. 8. Das Wachstum von *Colletotrichum atramentarium* (Hanfherkunft oben; Kartoffelherkunft unten) auf Biomalzagar in Abhängigkeit von der H-Ionenkonzentration des Mediums

kunft des Parasiten unterschieden sich kaum in der Wachstumsintensität, dagegen deutlich in ihrem Wuchstyp und in der Bildung von Sklerotien, wie es bei den vorausgegangenen Nährbodenversuchen sichtbar wurde. Die Sklerotienbildung war auf fast allen pH-Stufen bei der Kartoffelherkunft reichlich, nur bei pH 3,8 und 4,8 gering. Die Hanfherkunft des Erregers sporulierte besonders reichlich bei pH 4,8.

In Ergänzung dieser Versuche auf Agarnährmedien wurden beide Herkünfte auf RICHARDscher Nährlösung kultiviert, die in gleicher Weise wie oben beschrieben auf 10 verschiedene Wasserstoffionenkonzentrationen (pH 2 bis 11) eingestellt wurde. Obgleich sich der pH-Wert der unbeimpften Nährlösung im Verlaufe der mehrwöchigen Kulturzeit veränderte, ließ sich deutlich erkennen, daß in der beimpften Nährlösung eine frühzeitig einsetzende Änderung der Wasserstoffionenkonzentration in Richtung auf den Neutralpunkt erfolgte. Dieser Befund dürfte die oben angeführte Beobachtung erklären, daß innerhalb eines pH-Bereiches von pH 5 bis 9 kein deutlicher Einfluß auf das Wachstum feststellbar war.

4. Der Einfluß der Temperatur auf das Wachstum

Die beiden erwähnten Herkünfte von *Colletotrichum atramentarium* wurden in Petrischalen auf 4 Nährböden (Biomalz-, Kartoffelsaft-, Luzernedekokt- und synthetischer Agar) bei folgenden Temperaturen kultiviert: 7, 15, 25, 30 und 35 °C. Nach 2, 3, 4, 5 und 6 Tagen erfolgte eine Ermittlung der Koloniengröße als Maßstab des Wachstums. Die Ergebnisse mit der Kartoffelherkunft des Erregers auf Biomalzagar sind in Abbildung 9 zusammengestellt. Auf den übrigen Nährböden wurden ähnliche Ergebnisse erzielt. Innerhalb von 15 bis 30 °C wuchsen beide Erregerherkünfte gut. Erst nach längerer Zeit (6 Tagen) begann auch bei 7 °C eine sichtbare Entwicklung. Die Ergebnisse weisen auf ein deutliches Wachstumsoptimum bei 25 °C hin. Das gleiche Ergebnis wurde auch bei der Konidienkeimung festgestellt. Ein Unterschied in den Temperaturansprüchen ließ sich zwischen den beiden Erregerherkünften nicht ermitteln. Dagegen waren deutliche Unterschiede in der Sklerotienbildung und -anordnung zu beobachten. Diese liegen in der auf Seite 39 angegebenen Richtung und sind in Abbildung 7 dargestellt worden.

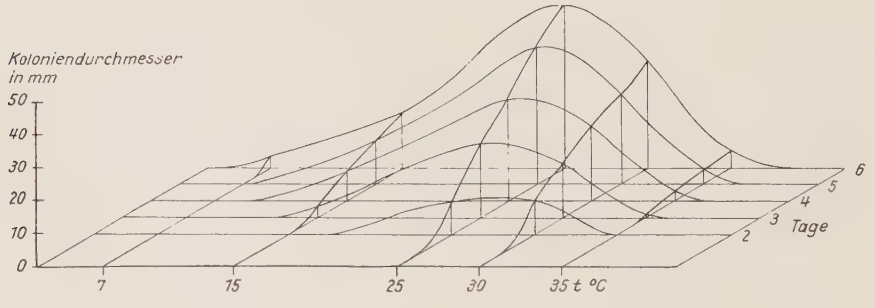


Abb. 9. Das Wachstum von *Colletotrichum atramentarium* (Kartoffelherkunft) auf Biomalzagar in Abhängigkeit von der Temperatur und Zeit

Zu erwähnen bleibt noch die Beobachtung, daß die Sklerotienbildung — wie auch das Wachstum — mit abnehmender Temperatur deutlich nachlassen. Der Einfluß der Temperatur auf die Sklerotienbildung wird besonders deutlich, wenn wachsende Kulturen Wechseltemperaturen ausgesetzt werden. In Abbildung 10 ist eine derartig behandelte Kultur dargestellt, bei der sich ringartige Zonen mit dünnem und dichtem Sklerotienbesatz entsprechend der Einwirkung niederer (17 °C) oder höherer (25 °C) Temperaturen abheben.

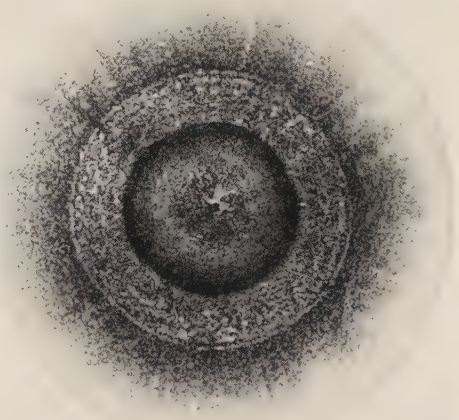


Abb. 10. Sklerotienbildung bei *Colletotrichum atramentarium* unter dem Einfluß wechselnder Temperaturen

Die physiologischen Untersuchungen haben ergeben, daß die beiden Herkünfte in mehreren Eigenschaften weitgehende Übereinstimmung besitzen. Die auffälligen Unterschiede in der Form, Größe und Anlage der Sklerotien auf verschiedenen Nährböden deuten auf das Vorliegen zweier verschiedener physiologischer Rassen hin.

IV. Infektionsversuche

1. Infektionsversuche an Hanfsämlingen

Obgleich das Auftreten der Hanfanthraknose unter Feldbedingungen erst nach der Blüte zu beobachten war, wurden Versuche zur Bestimmung der Pathogenität an Jungpflanzen durchgeführt.

Zur Verwendung kamen im Gewächshaus angezogene, meist im dritten Laubblattstadium befindliche Hanfpflanzen. Sie wurden bei Zimmertemperatur (18 bis 22 °C) unter feuchten Bedingungen aufgestellt und mit einer Konidiensuspension der von Hanf und Kartoffeln isolierten Stämme von *Colletotrichum atramentarium* besprüht. Die Ergebnisse mehrfacher Versuchsreihen können folgendermaßen zusammengefaßt werden:

a) Wenige Tage nach Infektion mit der Hanfherkunft entwickelten sich anfangs nur auf den Kotyledonen, später auf den Laubblättern punktartige Nekrosen, die sich rasch zu dunkelgraugrünen Blattflecken ausdehnten. Das befallene Gewebe war eingesunken, geschrumpft und auf der Oberseite oft faltig, so daß Blattkrümmungen und Verdrehungen auftraten (Abb. 11). Die Kotyledonen fielen unter Braunfärbung rasch ab. Die befallenen Laubblätter verloren ihre Turgeszenz, hingen herab und erweichten. Am Hypokotyl traten strichförmige Nekrosen auf. Von den Blättern aus ging der Parasit auf den Stengel über, welcher am

Abb. 11. Blattflecke an Hanfjungpflanzen nach künstlicher Infektion mit *Colletotrichum atramentarium* (Hanfherkunft). Rechts Kontrollblätter

Blattansatz erweichte, so daß die Pflanzen meist oberhalb des ersten Laubblattpaares umbrachen und vertrockneten (Abb. 12).

b) Die Kartoffelherkunft von *Colletotrichum atramentarium* führte zu den gleichen Erscheinungen, jedoch war die Virulenz des benutzten Stammes wesentlich geringer als die der Hanfherkunft.

c) Die Kontrollpflanzen behielten während der Versuchsdauer ihr normales Aussehen. Nach den Ergebnissen dieser Untersuchungen kann kein Zweifel bestehen, daß der von Hanf isolierte und als *Colletotrichum atramentarium* identifizierte Pilz als der Erreger der Hanfanthraknose zu betrachten ist.

Histologische Untersuchungen über den Infektionsvorgang ergaben, daß die auf das Blatt gelangenden Konidien unter günstigen Bedingungen rasch keimen, worauf von jeder Keimhyphe ein bis mehrere Appressorien ausgebildet werden. Der Erreger dringt mit einer Infektionshyphe in die Epi-

Abb. 12. Anthraknosebefall an Hanfjungpflanzen nach künstlicher Infektion mit *Colletotrichum atramentarium* (Hanfherkunft). Rechts Kontrollpflanzen

dermiszellen ein und besiedelt das Wirtsgewebe unspezifisch. An Stengelquerschnitten wurde sichtbar, daß die Hyphen durch das Rindenparenchym bis an den Gefäßbündelring vordringen und ebenfalls in das Mark übergreifen. Die befallenen Zellen verbräunen, wobei das Plasma degeneriert und die Zellen schließlich mit einer braunen granulierten Masse gefüllt sind. Äußerlich beobachtet man strichförmige Nekrosen. In den Epidermiszellen bildet der Erreger Acervuli, die bei der Infektion mit der Hanfherkunft gelegentlich bei der Kartoffelherkunft reichlich mit Borsten besetzt waren. Bei beiden Herkünften erfolgte eine starke Konidienbildung. An den Blättern sind gleichfalls Nekrosen zu beobachten, denen im Bereich des Hyphenwachstums meist eine Chlorose vorausgeht. Auffällig war die starke Hyphenansammlung in den Blatthaaren, die teilweise ganz mit Myzel gefüllt waren.

2. Infektionsversuche an abgeschnittenen Pflanzen

Um auch ältere unter Freilandbedingungen aufgewachsene Pflanzen im Gewächshaus und Labor infizieren zu können, wurden 20 cm lange Triebspitzen von 1,5 m hohen Feldpflanzen abgeschnitten, teils in Wasser und teils in feuchten Sand gestellt und in gleicher Weise wie bei Hanfsämlingen infiziert. Die Pflanzen standen schattiert in feuchten Kammern bei 18 bis 25 °C. Der Infektionserfolg war nach wenigen Tagen sichtbar und äußerte sich in zahlreichen zunächst punktförmigen nekrotischen Blattflecken, die sich rasch vergrößerten. Gleiche Verfärbungen waren auf den Stengeln zu beobachten. *Colletotrichum atramentarium* ließ sich durch eine reichliche Acervulibildung einwandfrei nachweisen. Die Reisolierungsversuche bestätigten dieses Ergebnis.

3. Infektionsversuche unter Freilandbedingungen

Infektionsversuche unter Freilandbedingungen unterscheiden sich von Gewächshausversuchen besonders dadurch, daß die Versuchspflanzen unter natürlichen Bedingungen aufgewachsen sind und daß der Parasit starken Witterungsschwankungen ausgesetzt ist. Zunächst sollte geklärt werden, ob es gelingt, unter Freilandbedingungen einen Keimlingsbefall zu erzielen. Dazu wurden folgende Versuche durchgeführt:

a) Aussaat künstlich infizierten Saatgutes. Saatgut der Sorte „Havelländischer Hanf" wurde mit einer konzentrierten Konidiensuspension übersprüht, wenige Stunden an der Luft getrocknet und im Feld ausgedrillt.

b) Beisaat von verseuchtem Saatgut. Um dem Erreger eine längere Lebensdauer im Boden zu ermöglichen, wurde Hanfsaatgut in 300-ml-Erlenmeyerkölbchen sterilisiert und mit *Colletotrichum atramentarium* beimpft. Nachdem der Erreger das Substrat gut durchwachsen hatte, wurde dieses mit unbehandeltem Saatgut im Verhältnis 1 : 1 gemischt und im Feld ausgedrillt.

c) Aufstreuen von *Colletotrichum atramentarium* befallenem Substrat auf auflaufende Pflanzen. Kurz nach dem Auflaufen der Pflanzen wurden diese mit Hanfsamen bestreut, auf denen der Parasit angezogen worden war. Damit sollte ein länger anhaltendes oberirdisches Reservoir des Erregers geschaffen werden.

Die Größe der Versuchs- und Kontrollparzellen betrug 8 m². Die Infektionen wurden mit der Hanf- und Kartoffelherkunft von *Colletotrichum atramentarium* durchgeführt. Die mehrfache Durchsicht der Parzellen wäh-

rend der Vegetationsperiode ergab, daß es nicht gelungen war, durch die angeführte Behandlung die Anthraknose des Hanfes auszulösen.

d) Infektion an Jungpflanzen. Im Feldbestand wurden Pflanzen von 40 und 60 cm Höhe in Kleinparzellen mit einer Größe von 30 × 20 cm mit einer konzentrierten Konidiensuspension übersprüht und mehrere Tage unter Glasglocken und Glaskästen feucht gehalten.

Obwohl im Gewächshause bei Infektionsversuchen die ersten Symptome nach 5 bis 7 Tagen zu beobachten waren, konnte unter Feldbedingungen kein Infektionserfolg erzielt werden. Offensichtlich lag der Grund darin, daß es nicht gelang, die relative Luftfeuchtigkeit ständig über 95 % zu halten. Bis zur Reife blieben die Pflanzen befallsfrei.

e) Infektionen an Pflanzen nach der Blüte. Um die im Befallsgebiet im Feld beobachteten Stengelsymptome zu erhalten und die Pathogenität des Erregers nachzuweisen, wurden mehrere männliche und weibliche Hanfpflanzen nach der Blüte im Bestand zusammengebunden und, nachdem ihre Stengelteile in gleicher Höhe mit einer konzentrierten Konidiensuspension befeuchtet worden waren, ein mit feuchtem Filterpapier ausgelegter Perfolbeutel darübergezogen und an beiden Enden zugebunden. Im Innern des Beutels herrschte mehrere Tage eine hohe Luftfeuchtigkeit. Nach 21 Tagen wurden die Beutel entfernt und die infizierten Stengelteile makroskopisch und mikroskopisch untersucht.

Während auf den weiblichen Pflanzen eine deutliche Verfärbung und Fleckbildung nur gelegentlich beobachtet wurde, zeigten die männlichen Pflanzen, die inzwischen weitgehend abgereift waren, die typischen Verfärbungen, wie sie im Havelländischen Luch zu Beginn der Untersuchungen beobachtet wurden. Die Infektionen waren zum Haften gekommen. Der Erreger hatte bereits vielfach sporuliert. Acervuli und Konidien des Pilzes konnten auch auf den geringen Braunverfärbungen an den weiblichen Pflanzen beobachtet werden. Gegenüber der Hanfherkunft waren die durch die Kartoffelherkunft von *Colletotrichum atramentarium* verursachten Krankheitssymptome nur geringfügig, die Pathogenität dieses Stammes daher nur schwach.

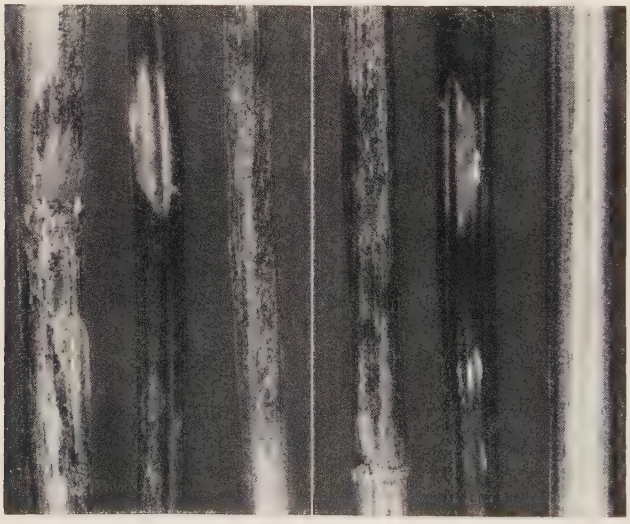


Abb. 13. Anthraknosebefall an Hanfstengeln nach künstlicher Infektion mit *Colletotrichum atramentarium* (Hanfherkunft). Rechts gesunder Stengel

4. Infektionsversuche unter Gewächshausbedingungen

Versuche gleicher Art im Gewächshaus an eingetopften, abgeblühten Hanfpflan-

zen verliefen ebenfalls erfolgreich. Nach 7 Tagen hatten sich umfangreiche Braunverfärbungen des Stengelgewebes eingestellt (Abb. 13), die zahlreiche mit Borsten besetzte Acervuli trugen. Auf den männlichen Pflanzen waren trotz starker Sklerotienbildung nur geringe Verfärbungen zu beobachten. Die Kartoffelherkunft des Erregers war weniger aggressiv als die Hanfherkunft.

5. Infektionsversuche an Tomatenjungpflanzen

Um zu einer weiteren und noch besseren Differenzierung der Pathogenität der beiden Erregerherkünfte zu gelangen, wurden Infektionsversuche an Tomaten durchgeführt. Auf dieser Pflanze verursacht der Parasit eine ähnliche Erkrankung wie an der Kartoffel, nämlich eine Wurzelfäule, die zu einer Welke der Pflanzen führt. Trotzdem eine Blatt- und Stengelerkrankung durch *Colletotrichum atramentarium* an Tomate bisher nicht bekannt war, wurden die beiden Herkünfte des Erregers zunächst analog zu den Versuchen an Hanf auf ihre Pathogenität auf der oberirdischen Pflanze geprüft.

Im Gewächshause angezogene Tomatenpflanzen (Sorte „Lukullus") wurden durch Übersprühen mit einer Konidiensuspension oder durch Auflegen mit Konidiensuspension getränkter Filterpapierstückchen infiziert. Die Pflanzen wurden anschließend unter feuchten Glocken bei einer Temperatur von 18 ° bis 20 °C gehalten. Zur Infektion wurden 4 Tage alte Luzernestengelkulturen der Kartoffel- und Hanfherkunft von *Colletotrichum atramentarium* benutzt. Die Konidienkonzentration betrug in allen Versuchen über 3 Mill. Konidien/ml und war in den einzelnen Versuchen bei beiden Herkünften weitgehend übereinstimmend.

Die ersten Anzeichen einer Erkrankung waren nach 4 bis 5 Tagen sichtbar und bestanden in chlorotischen Aufhellungen einzelner Blattpartien mit punktartigen nekrotischen Flecken. Nach 7 Tagen waren deutlich ausgeprägte braungrüne Blattflecke mit zahlreichen nekrotischen Herden zu beobachten, die zum Absterben des Blattes führten (Abb. 14). Die Blattadern waren vielfach verbräunt. Die Blattoberseite war meist sehr reichlich mit Acervuli des Erregers bedeckt, die zu einer massenhaften Konidienproduktion übergegangen waren (Abb. 15).

Abb. 14. Blattflecke an Tomaten durch *Colletotrichum atramentarium;* künstliche Infektion. Rechts unbefallene Blätter

An den Blattstielen und Stengeln der infizierten Pflanzen konnten zwei verschiedene Symptome beobachtet werden. Bei der Kartoffelherkunft traten in Längsrichtung verlaufende Nekrosen auf, die sich auf die Epidermis und Teile des Rindenparenchyms beschränkten (Abb. 16). Die Festigkeit des Sten-

Abb. 15. *Colletotrichum atramentarium* (Kartoffelherkunft). Links Acervuli auf einem Tomatenblatt, rechts Besiedlung eines Drüsenhaares einer Tomate (künstliche Infektion)

gelgewebes wurde dadurch nicht beeinflußt. Weitgehend andere Symptome waren nach der Infektion durch die Hanfherkunft des Erregers an Tomatenstengeln zu beobachten. In den Blattachseln und am Stengel traten anfangs dunkelgrüne, wäßrige Flecke auf, die oberflächlich geringfügige Verbräunungen aufwiesen. Sie führten in wenigen Tagen zu einer Erweichung der betroffenen Stengelpartien, so daß die Pflanzen an dieser Stelle umbrachen (Abb. 16). In Stengelquerschnitten ließ sich das Myzel des Parasiten stets nachweisen und auf der Oberfläche der Läsionen hatten sich Acervuli entwickelt, die reichlich sporulierten. Dieser Krankheitsverlauf war typisch für die Hanfherkunft von *Colletotrichum atramentarium.* Ein weiterer Unterschied zwischen den beiden Herkünften des Erregers bestand in der Neigung zur Ausbildung von Borsten auf den Acervuli. Diese traten bei der Hanfherkunft nur vereinzelt auf und waren zahlreich bei der Kartoffelherkunft zu finden. Die Kontrollpflanzen behielten während der Versuchsdauer ihr normales Aussehen.

Abb. 16. Infektionserfolg an Tomatenpflanzen durch *Colletotrichum atramentarium.* Links Hanfherkunft, rechts Kartoffelherkunft

Die Infektionsversuche an Tomatenpflanzen haben ergeben, daß sich die beiden Herkünfte von *Colletotrichum atramentarium* in ihrer Pathogenität deutlich unterscheiden und als zwei verschiedene Rassen des Erregers betrachtet werden müssen.

Die beobachteten Blattsymptome weisen weitgehende Ähnlichkeit mit einem Krankheitsbild auf, welches nach Younkin und Dimock (1944) sowie Kendrick und Walker (1948) auf *Colletotrichum phomoides* zurückgeführt wird. Dieser Erreger verursacht auch eine Fruchtfäule an Tomaten. Über das Verhalten von *Colletotrichum atramentarium* auf Tomatenfrüchten ist bisher nichts bekannt, so daß die folgenden Infektionsversuche durchgeführt wurden.

6. Infektionsversuche an Tomatenfrüchten

Reifende Tomatenfrüchte (Sorte „Bonner Beste") wurden unter Laborbedingungen in feuchte Kammern, teils nach Stich- oder Schnittverletzungen, teils unverletzt durch Auflegen von Filterpapierstückchen, die mit einer wäßrigen Konidiensuspension getränkt waren, infiziert. Am Blütenende der Früchte befindet sich oft eine kleine Vertiefung, die bei einigen Tomatenfrüchten mit einer Konidiensuspension gefüllt wurde.

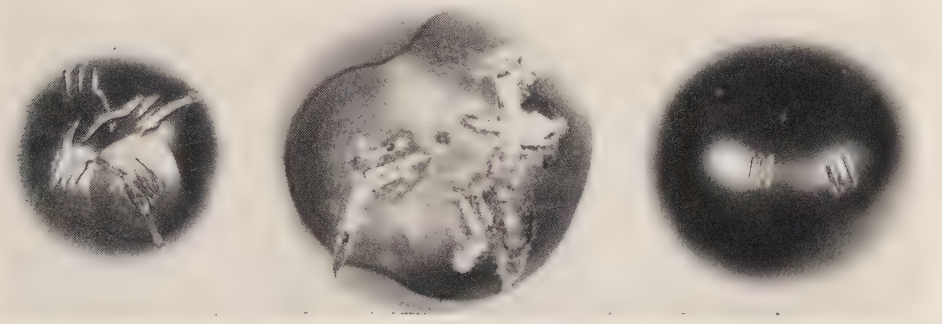


Abb. 17. Infektionserfolg an Tomatenfrüchten der Sorte „Vollendung" nach Schnittverletzung durch *Colletotrichum atramentarium*. Links Hanfherkunft, Mitte Kartoffelherkunft, rechts Kontrolle

Die Tomaten wurden bei Zimmertemperatur (20 °C) aufbewahrt. Nach 3 Tagen waren die ersten deutlichen Krankheitssymptome zu beobachten. Die beiden Erregerherkünfte hatten auf den Schnittstellen reichlich Myzel gebildet, welches bei der Kartoffelherkunft als eine relativ feste, beigefarbene Decke die Verletzungen überzog. An der Oberfläche wurden reichlich Konidien gebildet. Die Hanfherkunft füllte die Schnittstellen mit wolligem Myzel aus und bildete am Rande des verletzten Gewebes zahlreiche Acervuli (Abb. 17). Bei den Stichverletzungen ließen sich die ersten Anzeichen einer inneren Gewebezerstörung beobachten. Vom Einstich ausgehend, der mit Acervuli besetzt war, breitete sich ein kreisrunder wäßriger Fleck aus. Auf unverletzten reifenden Früchten waren vereinzelt oberflächlich sitzende Acervuli zu beobachten, Krankheitssymptome waren nicht zu erkennen. Im Verlaufe weniger Tage hatten sich die Symptome deutlich verstärkt. Die

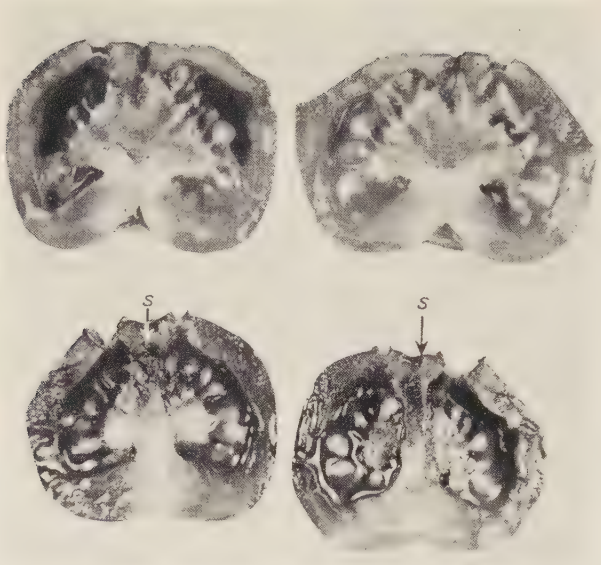


Abb. 18. Schnitt durch mit *Colletotrichum atramentarium* infizierte Tomatenfrüchte der Sorte „Vollendung"

Schnittverletzungen entwickelten sich zu langen Rissen, die bei der Kartoffelherkunft — wie bereits erwähnt — ausgefüllt waren. Deutlich unterschied sich die Hanfherkunft des Erregers, welche die Wundstellen mit einem schwarzen Stroma auskleidete. Das angrenzende Gewebe war leicht eingesunken, gummiartig erweicht und deutlich vom gesunden Gewebe abgegrenzt. Es entstanden wäßrige, kreisrunde, langsam fortschreitende Flecke, die nach dem Durchschneiden erkennen lassen, daß der Erreger bereits tief in das Gewebe eingedrungen ist, dieses aber nur geringfügig zerstört, so daß die Zellen noch im Gewebeverband bleiben (Abb. 18). Die befallenen Früchte weisen keine Geruchsveränderungen auf. Bei der Hanfherkunft war die Bildung sklerotialen Myzels auch im Innern der Früchte feststellbar.

Die Infektionsversuche an unverletztem Gewebe verliefen ebenfalls positiv. Es bildeten sich, wie bei Verletzungen, die kreisrunden, leicht eingesunkenen, gummiartig erweichten Gewebeflecke (Abb. 19). Sklerotienbildung war auf der Fruchtschale nicht selten, im Innern der Frucht jedoch nicht zu beobachten.

Die Ergebnisse der Infektionsversuche mit *Colletotrichum atramentarium* lassen deutlich erkennen, daß der Erreger verletzte und unverletzte Tomatenfrüchte zu befallen vermag.

Die Symptome sind weitgehend denen ähnlich, die nach WALKER (1952) durch *Colletotrichum phomoides* (Sacc.) Chester erzeugt werden. Diese Spezies wird von VON ARX (1957) als Synonym von

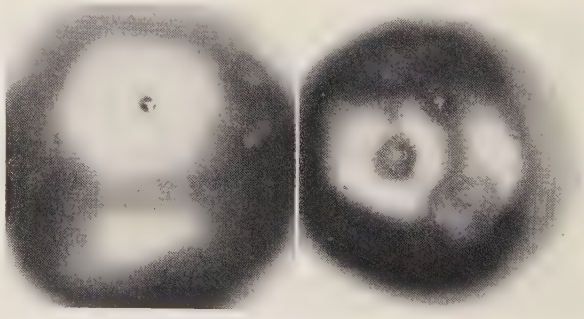


Abb. 19. Infektion unverletzter Tomatenfrüchte der Sorte „Vollendung" mit *Colletotrichum atramentarium*

Colletotrichum atramentarium angesehen. Die vorliegenden Untersuchungen bestätigen diese Annahme.

7. Infektionsversuche an Kartoffelpflanzen

Colletotrichum atramentarium ist bekannt als Erreger einer Wurzelfäule an Kartoffeln, die zu einer Welke und zum vorzeitigen Absterben der Pflanze führt (Defago und Gasser 1943, Dickson 1926, Schmiedeknecht 1956).

Die eigenen Infektionsversuche wurden an Dunkelkeimen, Lichtkeimen und jungen Trieben von Kartoffelknollen durchgeführt, wobei diese, wie die Tomatenpflanzen mit einer konzentrierten Konidiensuspension übersprüht oder durch Auflegen von Filterpapierstückchen, die mit einer Konidiensuspension angefeuchtet oder mit Sklerotienmaterial belegt waren, infiziert wurden. Die Pflanzen standen unter feuchten Bedingungen unter Ausschaltung des Lichtes bei Zimmertemperatur. Die Versuchsdauer betrug 14 Tage. In dieser Zeit konnte kein eindeutiger Infektionserfolg beobachtet werden. Olgay (1951) gelang es, starke Infektionen durch *Colletotrichum atramentarium* an Kartoffelpflanzen zu erhalten. Diese Experimente wurden von uns nach den Angaben des Autors wiederholt, jedoch gelang es nicht, seine Beobachtungen zu bestätigen. Aus den bisher vorliegenden Untersuchungsergebnissen über *Colletotrichum atramentarium* geht hervor, daß wir zur Zeit über keine einwandfrei durchführbare Infektionsmethode verfügen, die zu den typischen Krankheitssymptomen der Kartoffelwelke führt. Die eigenen Untersuchungen wurden nicht weiter ausgedehnt, da die Möglichkeit einer Differenzierung der Pathogenität der beiden Erregerherkünfte nicht gegeben war.

V. Untersuchungen zur Biologie des Erregers

1. Die Übertragbarkeit mit dem Saatgut

Die Anthraknose des Hanfes tritt erst nach der Blüte auf, und die Krankheitserscheinungen konnten bis in den Bereich der Infloreszenzen beobachtet werden. Es bestand damit die Möglichkeit, daß der Erreger die Samenanlage bzw. Samen befallen und auf diesem Wege von einer Vegetationsperiode zur anderen überdauern kann. Die Untersuchung des Hanfsaatgutes erfolgt in der Weise, daß die Samen in Petrischalen auf Malzagar ausgelegt werden. Nach 7 bis 10 Tagen (18 °C) sind die am oder im Samen lebenden Pilze ausgewachsen und können qualitativ und quantitativ erfaßt werden. Ein Teil der Samen wurde zuvor durch Eintauchen in Sublimat (0,1 %, 5 Min.) mit anschließendem Waschen in sterilem Wasser desinfiziert. Das Samenmaterial stammte aus einem stark befallenen Feldbestand. Insgesamt wurden 3030 Samen untersucht. Sie zeigten teilweise einen hohen Befall durch *Phoma* und *Alternaria*. Es konnte in keinem Falle *Colletotrichum atramentarium* festgestellt werden. Diese Untersuchung weist nach, daß einer Saatgutübertragung des Erregers keine Bedeutung beizumessen ist.

2. Die Überwinterung auf Pflanzenresten und im Boden

Bei der Ernte des Hanfes bleiben größere Mengen von Stoppelresten auf dem Felde zurück. Diese sind in erkrankten Beständen häufig von dem Er-

reger stark befallen. Daher war die Frage zu klären, ob der Erreger auf diesen Pflanzenteilen im Freiland und in der Erde zu überwintern vermag.

a) Eine armstarke, mit *Colletotrichum atramentarium* befallene Strohprobe wurde im Herbst im Freiland so aufgestellt, daß sie den Witterungsbedingungen ungeschützt ausgesetzt war. In vierwöchentlichen Abständen wurden einzelne Stengelteile entnommen und mikroskopisch auf den Besatz und die Entwicklung von *Colletotrichum atramentarium* untersucht. Es konnten zu jedem Zeitpunkt zahlreiche intakte Sklerotien des Pilzes nachgewiesen werden, Konidien waren unter diesen Bedingungen nur wenig gebildet worden. Nach Einlegen von Stengelteilen in feuchte Kammern entwickelten sich die Konidien meist reichlich. Der Parasit vermochte danach auf Pflanzenresten im Freiland zu überwintern.

b) Befallene, 5 cm lange Stengelteile wurden in 300-ml-Erlenmeyerkolben gegeben, die mit 150 ccm steriler oder unsteriler, mäßig feuchter Felderde (Lößlehm) gefüllt waren. Die verschlossenen Kolben wurden in den Erdboden eingegraben und blieben dort während der Vegetationsruhe 4 Monate stehen. Nach dieser Zeit waren in beiden Fällen auf den Stengelteilen massenhaft Konidien des Erregers zu finden. An Stelle der im Herbst eingelagerten Sklerotien waren Acervuli mit reichlichem Borstenbesatz getreten (Abb. 20). Mithin erfolgt eine gute Überwinterung des Erregers im Erdboden auf befallenen Pflanzenteilen, wobei eine Weiterentwicklung der Sklerotien zu Acervuli vor sich geht. Diese Entwicklung führt zu einer starken Bildung von Konidien, die im Frühjahr bereits für eine Neuinfektion zur Verfügung stehen.

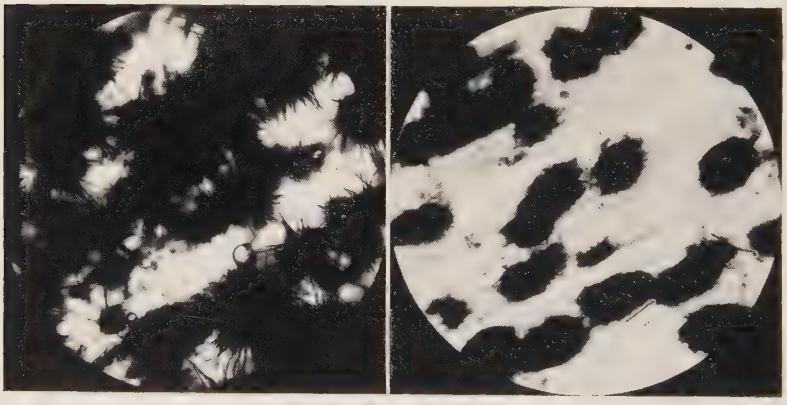


Abb. 20. Acervuli von *Colletotrichum atramentarium* auf überwintertem Hanfstroh (links). Rechts Sklerotien von *Colletotrichum atramentarium* vor der Überwinterung

c) Um die Möglichkeit einer Bodenverseuchung durch den Erreger zu untersuchen, wurden 300-ml-Erlenmeyerkolben, die mit 150 ccm Erde gefüllt waren, unter Druck sterilisiert und mit einer Konidiensuspension angeimpft. In gleicher Weise wurde mit nicht sterilisierter Erde verfahren.

Die Existenz des Parasiten in der sterilen Erde konnte über einen Zeitraum von 5 Monaten nachgewiesen werden. In unsteriler Erde vermochte sich der Pilz nicht zu halten, da er bereits 14 Tage nach Beginn des Versuches aus der unsterilen Erde nicht reisoliert werden konnte. Diese Untersuchungen bestätigen die Ergebnisse von GEMEINHARDT (1957).

Aus den bisherigen Ergebnissen kann auf folgenden Verlauf der Entwicklung des Parasiten und der Krankheit geschlossen werden: Der Erreger überwintert auf abgestorbenen Ernterückständen im Freiland und im Boden. Die im Herbst als Sklerotien angelegten Acervuli entwickeln sich im Frühjahr vollständig und bilden reichlich Konidien. Im Frühjahr und Vorsommer gelingt es nur selten, den Parasiten auf jungen Hanfpflanzen anzutreffen. Nach der Blüte setzt der eigentliche Befall der Pflanzen ein. Er beginnt meist bei den langsam abreifenden männlichen Pflanzen und geht dann auf die weiblichen über. Gleichzeitig wird der sogenannte Unterwuchs völlig zerstört.

Das starke Auftreten der Anthraknose nach der Blüte des Hanfes gibt Anlaß zu der Vermutung, daß zu diesem Zeitpunkt besonders günstige meteorologische Bedingungen vorgelegen haben. Diese Tatsache kann aber nicht als einzige Erklärung für den Spätbefall der Pflanzen herangezogen werden, sondern es ist anzunehmen, daß ebenfalls pflanzenphysiologische Besonderheiten einen Einfluß besitzen. Es fiel an blühenden Beständen, die kurze Zeit später von der Krankheit befallen wurden, auf, daß die Stengel der Pflanzen oberflächlich aschgrau bis hellbraun verfärbt waren, teilweise löste sich das Periderm in kleineren Partien streifenförmig ab. Darüber hinaus ließen Stengelquerschnitte erkennen, daß die Faserbündel sowohl an gesunden Partien als auch unterhalb des erkrankten Periderms eigenartig verändert waren. Die Faserzellen waren sehr großblumig, teilweise zusammengepreßt und lagen mehr oder weniger ungeordnet im Zellverband (Abb. 21). Nach persönlicher Mitteilung von Herrn Dr. MENZEL, Dresden, handelt es sich hierbei um die Auswirkungen von Ernährungsstörungen.

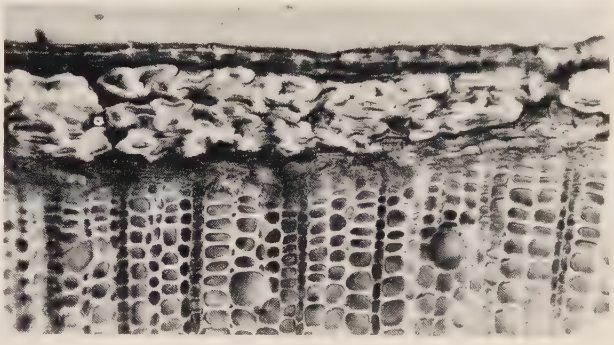


Abb. 21. Querschnitt durch einen gesunden Hanfstengel der Sorte „Havelländischer (Herkunft Hertefeld, Krs. Nauen, Niederungsmoorboden)

Auf abgestorbenen oder reifenden Organen der Pflanzen siedeln sich häufig zahlreiche parasitische und saprophytische Pilze an. Bei der Anthraknose des Hanfes handelt es sich jedoch nicht um eine unspezifische Besiedlung des Wirtes durch einen Ubiquisten, sondern es ist ein typischer Befall durch *Colletotrichum atramentarium,* für den allerdings eine zur Zeit noch unbekannte Prädisposition vorliegen muß.

Diskussion

Die Anthraknose des Hanfes wird durch den von der Kartoffel und Tomate bekannten Parasiten *Colletotrichum atramentarium* hervorgerufen. Dieser Befund stellt eine Erweiterung der Kenntnisse über den Wirtskreis des Erregers dar und zeigt gleichzeitig, daß dieser an *Brassica-*, *Clematis-*, *Cucurbita-*, *Dahlia-* und *Solanum*-Arten meist harmlose Pilz bei anderen Pflanzen eine große wirtschaftliche Bedeutung besitzt. Der Erreger befällt und zerstört diejenigen Teile der Hanfpflanzen, wegen deren Nutzung sie angebaut werden. Die Verluste werden meist erst bei der verarbeitenden Industrie bemerkt, da Fasern aus befallenem Stroh mißfarben sind und wenig Festigkeit besitzen.

Bisher blieb die Hanfanthraknose auf Moorgebiete beschränkt, und es mögen in erster Linie klimatische Faktoren das Auftreten der Krankheit begünstigen. Gegenüber dem Mineralboden bietet der Moorboden den Pflanzen weitere abweichende Standortfaktoren, so daß auch der Einfluß edaphischer Gegebenheiten zu erwägen ist. Die Struktur der Faserzellen des Moorbodenhanfes weicht von der des Mineralbodenhanfes ab, und man kann Veränderungen beobachten, die an eine Degeneration der Fasern erinnern. Diese Auswirkung von Ernährungsstörungen kann eine Krankheitsdisposition schaffen, die von *Colletotrichum atramentarium* ausgenutzt wird. Eingehende Nährstoffversuche sind zur Klärung dieser Frage erforderlich. *Colletotrichum atramentarium* ist trotz der engen Gebundenheit an klimatische, edaphische und pflanzenphysiologische Faktoren (Reifezustand) als ein echter Parasit an Hanf zu betrachten und nicht als ein Schwächeparasit anzusehen, wie die Infektionsversuche an Hanf- und Tomatenpflanzen zeigten.

Die Hanf- und Kartoffelherkunft von *Colletotrichum atramentarium* zeigten in einigen physiologischen Merkmalen gute Übereinstimmung. Sie unterschieden sich in der Größe der Konidien und Acervuli in Abhängigkeit vom Substrat und offenbarten wesentliche Verschiedenheiten in ihrem Verhalten auf einzelnen Nährböden. Sie erwiesen sich als zwei verschiedene physiologische Rassen mit auffälligen Differenzen in der Pathogenität auf Tomaten- und Hanfpflanzen.

Ein Befall von Tomaten durch *Colletotrichum atramentarium* war bisher nur an den unterirdischen Pflanzenteilen bekannt. Auch die oberirdische Pflanze ist gegenüber dem Erreger anfällig. Der Blatt- und der Fruchtbefall bei Tomaten gleichen weitgehend den bisher auf *Colletotrichum phomoides* zurückgeführten Krankheitssymptomen. Die von VON ARX (1957) angenommene Identität beider Spezies wird dadurch wesentlich gestützt.

Die einzige Überwinterungsmöglichkeit für den Parasiten bleiben die befallenen Ernterückstände, die bei der Hanfkultur beträchtlich sind. Dieses Überdauern von Jahr zu Jahr ist besonders bei Monokulturen ungünstig. Die Beobachtungen in den Hauptanbaugebieten des Hanfes bestätigen dieses Ergebnis insofern, als die Anthraknose besonders auf Feldstücken anzutreffen war, die 6 und mehr Jahre Hanf getragen hatten. Demgegenüber waren Hanffelder nach Wiesenumbruch auffallend gesund. In diesen Feststellungen

liegt zur Zeit der einzige Ansatzpunkt für eine Bekämpfung der Krankheit, die sich auf prophylaktische pflanzenbauliche Maßnahmen beschränken muß. Durch Vermeidung des einseitigen Anbaues von Hanf, durch zeitige Mahd und baldige Bergung der Ernte kann ein starker Befall und damit die Verminderung der Qualität des Erntegutes vermieden werden.

Zusammenfassung

1. Es wird über das Auftreten und die Verbreitung einer Anthraknose des Hanfes berichtet, die bei starkem Befall zu wirtschaftlichen Verlusten führt und die Qualität des Erntegutes wesentlich herabmindert.

2. Der Erreger der Anthraknose ist *Colletotrichum atramentarium* (Berk. et Br.) Taubenh.

3. Vergleichende morphologische und physiologische Untersuchungen einer Hanf- und einer Kartoffelisolation des Erregers ergaben, daß beide Herkünfte in den wichtigsten morphologischen Merkmalen übereinstimmen. Die Konidiengröße der Hanfherkunft von *Colletotrichum atramentarium* lag über der der Kartoffelherkunft; letztere bildete größere Einzelsklerotien. Deutliche Unterschiede waren bei der Kultivierung auf verschiedenen Nährböden zu beobachten. Die beiden untersuchten Herkünfte werden als verschiedene Rassen des Erregers angesehen.

4. *Colletotrichum atramentarium* keimt am besten bei 25 °C und einem pH-Wert des Mediums von 5 bis 6. Oberhalb von 35 °C findet keine Keimung statt. Das Temperaturoptimum für das Wachstum liegt bei 25 °C. Bei 7 °C und darunter ist nur eine sehr kümmerliche Entwicklung möglich.

5. In mehreren Infektionsversuchen an Hanfjungpflanzen wurde die Pathogenität beider Herkünfte von *Colletotrichum atramentarium* nachgewiesen. Die stärksten Krankheitssymptome wurden durch die Hanfisolation erzeugt. Feldinfektionen gelangen nicht an Jungpflanzen, sondern waren erst bei hoher Luftfeuchtigkeit an reifenden Pflanzen erfolgreich.

6. An Tomatenjungpflanzen erzeugten beide Herkünfte von *Colletotrichum atramentarium* eine Blattfleckenkrankheit. An der Sproßachse verursachte die Kartoffelisolation des Erregers strichförmige Nekrosen, die Hanfherkunft führte hingegen zu einer starken Erweichung der Stengel, wodurch die Pflanzen umbrachen.

7. Auf reifenden verletzten und unverletzten Tomatenfrüchten entwickelten sich nach der Infektion mit *Colletotrichum atramentarium* Krankheitssymptome, als deren Erreger bisher *C. phomoides* angesehen wurde. Die Annahme, daß diese Spezies ein Synonym von *Colletotrichum atramentarium* ist, wird damit experimentell gestützt.

8. Der Erreger der Hanfanthraknose wird nicht mit dem Saatgut übertragen und überwintert auf Pflanzenrückständen in oder auf der Erde. Die im Herbst angelegten Sklerotien entwickelten sich im Frühjahr zu borsten-

besetzten, reichlich sporulierenden Acervuli. Die Infektion und Besiedlung des Wirtes erfolgen im wesentlichen nach der Blütezeit des Hanfes.

9. Die Krankheit ist bisher nur von Moorböden bekannt. Auf die Möglichkeit einer Krankheitsprädisposition durch edaphische Faktoren wird hingewiesen.

Summary

1. A report is given on the occurrance and distribution of hemp anthracnose, severe attacks of which cause economic losses and considerably reduce the size of the harvest.

2. The pathogen of anthracnose is *Colletotrichum atramentarium* (Berk. et Br.) Taubenh.

3. Comparative morophological and physiological investigations of isolates of the pathogen from hemp and potato respectively showed that the two strains coincide in the main morphological features. The size of the conidia of the strain of *Colletotrichum atramentarium* from hemp was greater than that in the strain from potato; the latter strain formed larger single sclerotia. Clear differences were observed on culturing on different nutrient media. The two strains studied are considered to be distinct races.

4. *Colletotrichum atramentarium* germinates most successfully at 25 °C. and at a pH of 5—6 in the medium. No germination occurs above 35 °C. The optimum temperature for growth is 25 °C. At 7 °C. and below only very little development is possible.

5. The pathogenicity of both strains of *Colletotrichum atramentarium* was demonstrated in a number of infection experiments on young hemp plants. The strongest symptoms were produced by the isolate from hemp. Field infection was not possible with young plants and succeeded only with high air humidity when the plants were approaching maturity.

6. On tomato plants both strains of *Colletotrichum atramentarium* caused a leaf-spot disease. The potato isolate of the pathogen caused streak-like necroses on the shoot axis whereas the hemp isolate led to a marked weakening of the stem, as a result of which the stem broke.

7. After infection of wounded and unwounded tomato fruits by *Colletotrichum atramentarium* disease symptoms develop which have been previously ascribed to *C. phomoides*. This supports the assumption that this species is synonymous with *Colletotrichum atramentarium*.

8. The pathogen of hemp anthracnose is not transmitted by the seed and overwinters on plant remains in or on the soil. The sclerotia laid down in the autumn developed to richly sporulating acervuli in the spring. Infection and colonization of the host occur mainly after the hemp has flowered.

9. The disease is known so far only on bog soils. The possibility that predisposition to the disease can be caused by edaphic factors is indicated.

Literaturverzeichnis

Arx, J. A. von, 1957: Die Arten der Gattung *Colletotrichum* Cda. Phytopath. Z. **29**, 413—468.

Defago, G., et R. Gasser, 1943: La dartrose de la pomme de terre. Ber. Schweiz. bot. Ges. A **53**, 480—499.

Dickson, B. T., 1926: The "black dot" disease of potato. Phytopathology **16**, 23—40.

Gemeinhardt, H., 1957: Untersuchungen über den Saprophytismus des *Colletotrichum atramentarium* (B. et Br.) Taub. und die Lebensdauer der Sklerotien (Acervuli) des Pilzes. Phytopath. Z. **29**, 151—176.

Hoffmann, G. M., 1958: Das Auftreten einer Anthraknose des Hanfes in Mecklenburg und Brandenburg. Nachr. Bl. dtsch. Pflzschutzd. NF **12**, 96—99.

Kendrick, J. B., and J. C. Walker, 1948: Anthracnose of tomato. Phytopathology **38**, 247—260.

Olgay, M., 1951: Fertözési vizsgálatok *Colletotrichum atramentarium* mal burgonyán Agrartudomanyi Egyetem Kert-és Szölogazdaságtudományi. Kar Evkönye **15**, 195 bis 204.

Schmiedeknecht, M., 1956: Untersuchung des Parasitismus von *Colletotrichum atramentarium* (B. et Br.) Taub. an Kartoffelstauden (*Solanum tuberosum* L.). Phytopath. Z. **26**, 1—30.

— —, 1957: Beitrag zur Morphologie und Cytologie von *Colletotrichum atramentarium* (B. et Br.) Taub. Phytopath. Z. **29**, 339—345.

Walker, J. C., 1952: Diseases of vegetable crops. New York.

Younkin, S. G., and A. W. Dimock, 1944: Foliage infections of *Lycopersicon esculentum* by *Colletotrichum phomoides*. Phytopathology **34**, 976—977.

Aus dem Institut für Pflanzenkrankheiten
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn
Direktor: Prof. Dr. H. Braun

Untersuchungen über *Dothichiza populea* Sacc. et Briard, den Erreger des Rindenbrandes der Pappel[1])

Von

M. Hubbes

Mit 17 Abbildungen

Inhalt: A. Einleitung und Literaturbericht. — B. Experimenteller Teil. I. Material und Methoden. II. Untersuchungen über das Verhalten verschiedener Herkünfte von *D. populea* auf künstlichen und natürlichen Substraten. 1. Wachstumsversuche a) mit verschiedenen C-Quellen; b) mit Aminosäuren; c) mit Wirkstoffen; d) mit Pappelrindenextrakt. 2. Prüfung biologischer Eigenschaften verschiedener Herkünfte von *D. populea;* a) Abhängigkeit des Wachstums von *D. populea* von der Temperatur; b) Verfärbung der Pappelrindenextraktnährlösung; c) Pathogenität an Pappelstecklingen. III. Infektionsversuche. 1. Myzelinfektionen; a) Infektionsversuche bei verschiedenen Temperaturen; b) Infektionsversuche bei konstanten Temperaturen. 2. Sporeninfektionen; a) Sporenkeimungsversuche; b) Infektionsversuche. IV. Antagonistisches Verhalten von *D. populea.* 1. Versuche zur Isolierung eines Welketoxins. 2. Versuche zur Isolierung eines Hemmstoffes. — C. Diskussion. — Zusammenfassung. — Summary. — Literaturverzeichnis.

A. Einleitung und Literaturbericht

Die Erstbeschreibung des Erregers des Rindenbrandes der Pappel, *Dothichiza populea*, stammt von Saccardo und Briard (1884). Sie fanden den Pilz an toten Pappelästen in Frankreich. 1889 beobachtete ihn Oudemans in Holland, 1893 Krieger in Deutschland. Delacroix beschrieb 1903 und 1906 sein erstes parasitisches Auftreten in Frankreich.

Hedgcock und Hunt berichteten 1916 über stärkere Schäden durch den Rindenbrand der Pappel in den USA. Sie vermuteten, daß der Krankheitserreger aus Europa eingeschleppt wurde, während Moss (1922) ihn für schon lange in Amerika heimisch hielt. Das Hauptbefallsgebiet des Pilzes lag im Norden und Nordosten der Vereinigten Staaten und Südostkanada.

In Deutschland verursachte der Krankheitserreger 1924 erstmals (Eichbaum 1955) größere Schäden. Das in späteren Jahren verstärkte Auftreten

[1]) Die Untersuchungen sind mit Unterstützung des Ministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten von Nordrhein-Westfalen durchgeführt worden, dem für die Gewährung von Mitteln ergebenst gedankt sei.

von *D. populea* ist nach KOTTHOFF (1931), BABEL (1931) und RICHTER (1933) auf eine Verschleppung durch krankes Baumschulmaterial zurückzuführen.

Etwa zur gleichen Zeit konnte der Rindenbrand der Pappel auch in Italien (RICHTER), Frankreich (DUFRÉNOY 1930), Belgien (QUAIRIERE 1931) und Rumänien (SAVULESCU 1930) beobachtet werden.

Über das Auftreten des Krankheitserregers machen BAVENDAMM (1936), GOIDANICH (1940), BRENY (1946), KISPATIC (1950), CIFERRI (1951), MÜLLER (1952) und ZYCHA (1955) weitere Angaben. Letztere weisen auf die besonders großen Kalamitäten der verflossenen drei Jahre hin.

In Arbeiten über die Systematik des Pilzes konnte VOGLINO 1910 die Vermutung DELACROIXS über die Zugehörigkeit des Pilzes zu den Discomyceten durch den Nachweis erhärten, daß *D. populea* die Pyknidienform des Ascomyceten *Cenangium populeum* (Pers.) Rehm. ist. Auf Grund taxonomischer Arbeiten nannte KLEBAHN ihn 1933 *Chondroplea populea*. Darüber hinaus konnte er 1937 — wie auch VAN VLOTEN 1938 — die Angaben VOGLINOS nicht bestätigen. Die Suche nach der Hauptfruchtform beendete BUTIN (1957 b) mit dem Nachweis, daß die von FUCKEL (1864) im Rheinland beobachtete *Cryptodiaporthe populea* mit *D. populea* identisch ist.

Seit Anfang der 30er Jahre bringen die meisten Autoren — fast ausschließlich auf Beobachtungen gestützt — Angaben über die Bedingungen für das Auftreten der Krankheit. Über den Einfluß des Standortes auf die Disposition der Pappel berichten v. WETTSTEIN (1943), RICHTER (1933) und HILF (1955). Das Auftreten des Rindenbrandes kann nach diesen Autoren in einigen Fällen auf ungünstige Standorte zurückgeführt werden, doch ist ihr Einfluß bei dem Massenauftreten des Rindenbrandes der letzten Jahre offenbar von untergeordneter Bedeutung.

Weit größere Bedeutung wird dem Witterungsverlauf (ZYCHA 1955) und hier besonders den Frostwechseltagen beigemessen (HILF 1955, FRANKEN 1955).

KLEBAHNS Untersuchungen 1937 über die Infektionsverhältnisse an jungen Pappelpflanzen ergaben besonders starke Schäden im Frühjahr unmittelbar nach der Verpflanzung. Auch VAN VLOTEN (1938) erzielte die meisten Infektionen im zeitigen Frühjahr. In Italien tritt der Rindenbrand in kalten Jahren und im Winter stärker auf als im Sommer (GOIDANICH 1940). Im Rahmen von Infektionsversuchen untersuchte SCHÖNHAR (1952) die Frage, ob der Pilz die Pflanze während der Vegetationsperiode infizieren kann. Aus den spärlichen Infektionserfolgen während der Vegetationsperiode schloß er, daß die Infektionsgefahr unter natürlichen Bedingungen in diesem Zeitabschnitt sehr gering ist. Seine Versuche, die Pappeln über die unverletzten Blätter zu infizieren, verliefen im Gegensatz zu den Versuchen HEDGCOCKS (1927) negativ. Weitere Untersuchungen SCHÖNHARS (1953) ergaben, daß der Pilz im allgemeinen die Sommermonate in unverholzten Trieben nur schwer überdauern kann. Voraussetzung hierfür scheint die Schwächung der Pflanze durch große Wasserverluste zu sein; dies stimmt mit der Vermutung VAN VLOTENS (1938) überein, der den gestör-

ten Wasserhaushalt der Pflanze als Ursache für das leichte Vordringen des Pilzes im Rindengewebe ansieht.

Auch SCHMIDLE (1954) erzielte die meisten Infektionen während der Vegetationsruhe der Pflanzen; er schloß daraus, daß die Infektion im Freiland in den Monaten September bis März erfolgt. Auch er konnte die Ergebnisse HEDGCOCKS nicht bestätigen.

ZYCHA (1955) vermutet, daß der Pilz an seiner Ausbreitung im Rindengewebe durch eine mechanische Barriere gehindert wird, deren Bildung von der Wuchskraft der Pappel abhängt. Nach SCHÖNHAR (1955) kann *D. populea* die Vegetationsperiode symptomlos überdauern und im nächsten Frühjahr aus alten Wunden erneut hervorbrechen. Die natürliche Infektion soll in den Monaten Mai und Juni erfolgen.

MOSS (1922), RICHTER (1933), BAVENDAMM (1936), DAVIS (1942), TER PELWIJK u. BRINK (1946), SCHÖNHAR (1952), OW (1953), GERHARD (1953) und SCHMIDLE (1954) fanden Unterschiede in der Sortenanfälligkeit. Nach VAN VLOTEN (1938) werden alle Sorten, aber unterschiedlich, nach MÜLLER (1952) jedoch gleichmäßig stark befallen.

NATHER (1954) kommt auf Grund seiner Beobachtungen zu der Feststellung, daß der Massenbefall niemals auf eine bestimmte Ursache zurückzuführen sei, sondern das Ergebnis mehrerer ungünstiger Faktoren darstellt.

Die bis zu Beginn meiner Arbeit (Herbst 1955) veröffentlichten Untersuchungen ergaben, daß künstliche Infektionen während der Vegetationsruhe besser gelingen als in der Vegetationszeit und daß als Infektionsweg für den Pilz offenbar nur Wunden in Frage kommen.

Exakte Untersuchungen über Temperatur- und Nährstoffansprüche des Pilzes und seiner Herkünfte sowie über die Abwehrreaktionen der Pappel gegenüber *D. populea* lagen nicht vor.

Aus der Fülle ungelöster Fragen wurden deshalb folgende herausgegriffen:

1. Bestehen zwischen den Herkünften von *D. populea* Unterschiede in Biologie und pathogenem Verhalten?
2. Wie reagieren gesunde und verletzte Pflanzen auf künstliche Infektionen?
3. Läßt sich eine stoffliche Beeinflussung der Pflanze durch den Pilz beobachten?

B. Experimenteller Teil

I. MATERIAL UND METHODEN

Zu den Untersuchungen wurden 11 Herkünfte von *D. populea* herangezogen: 9 waren aus krankem Baumschulmaterial in der Zeit vom 15. 3. bis 13. 4. 1956 isoliert, je eine entstammte dem „Centraalbureau voor Schimmelkultures Baarn“ und der Sammlung des Botanischen Instituts der Ernst-Moritz-Arndt-Universität, Greifswald. Ihre Kultivierung erfolgte auf sterilisierten Pappelzweigen in Reagenzgläsern, auf Biomalz (2 % Biomalz und 1,8 % Agar), auf Pappelrindenextraktagar und in synthetischen Nährlösungen.

Die in Biomalz und Rindenextrakt vorkommenden Aminosäuren und die Spaltprodukte der Zucker wurden papierchromatographisch bestimmt. Als Steigflüssigkeit diente Butanol — Eisessig — Wasser 4 : 1 : 5 (Stange 1955, Merck AG 1955, Cramer 1953). Die quantitative Auswertung der Zucker erfolgte photometrisch mit dem Photometer „Eppendorf".

Die Pflanzen wurden im Gewächshaus bei 20—24 °C bzw. in vollautomatischen Klimakammern (Fa. Alfred Teves, Frankfurt/M.) und künstlicher Beleuchtung von 3500—4000 Lux in Mitscherlichgefäßen angezogen.

Für mikroskopische Untersuchungen wurden Mikrotomschnitte angefertigt. Die Verkorkung der Zellen wurde nach Tison (Klaus 1941) mit Gentianaviolett-Ammoniak geprüft, Lignin mit Phloroglucin-Salzsäure und Pilzmyzel nach Färbung mit Baumwollblau nachgewiesen.

Die biologisch-statistische Auswertung der Versuche erfolgte varianzanalytisch. Die Signifikanz der Differenzen wurde im t-Test ermittelt. Differenzen mit Überschreitungswahrscheinlichkeit von:

p % 5 gelten als nicht gesichert (0)
p % 5 gelten als schwach gesichert (*)
p % 1 gelten als gesichert (**)
p % 0,1 gelten als gut gesichert (***)

Als Zeichen dienten:

$\bar{x}$ = arithmetisches Mittel
s = Streuung
N = Anzahl der Einzelwerte
Σ = Summe der Einzelwerte

II. UNTERSUCHUNGEN ÜBER DAS VERHALTEN VERSCHIEDENER HERKÜNFTE VON *D. populea* AUF KÜNSTLICHEN UND NATÜRLICHEN SUBSTRATEN

Schönhar beschrieb 1953 in Wuchsbild und Myzelfarbe unterschiedliche Stämme von *D. populea*. Meine Herkünfte zeigten außer diesen Merkmalen noch Verschiedenheiten in ihrer Wachstumsintensität. Somit erhob sich die Frage, ob diese Unterschiede auf zufälligen Wachstumsschwankungen beruhen oder herkunftsspezifisch sind.

Da der Pilz auf Biomalzagar sehr verzweigt wächst, so daß sich dieser Nährboden für Planimetermessungen nicht eignet, wurde zunächst nach einem solchen gesucht, auf dem ein schnelleres und vor allem gleichmäßigeres Wachstum als auf Biomalz erfolgt. *D. populea* ist bisher noch nicht auf voll synthetischen Nährböden kultiviert worden. Es war daher erforderlich, die Nährstoffansprüche des Pilzes zu ermitteln.

1. Wachstumsversuche

a) mit verschiedenen C-Quellen

Über die selektive Verwendung von C-Quellen durch Pilze liegen bereits zahlreiche Untersuchungen vor (Janke 1946, Niethammer und Ungerer 1951, Stalder 1954, Kern 1957, Loeffler 1957, Schwinn 1959).

Folgende Zucker wurden auf ihre Verwertbarkeit durch *D. populea* geprüft:

Glukose	3 %
Galaktose . . .	3 %
l-Sorbose	3 %
Maltose	1,5 %
Saccharose . . .	1,5 %
Saccharose . . .	3 %

Sie wurden einer Grundnährlösung (vgl. SCHWINN 1959), bestehend aus 2 g Asparagin, 1 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$ zu 1000 ccm Aqua dest., zugefügt.

Die Versuche wurden in Erlenmeyerkölbchen (100 ccm Inhalt) durchgeführt; sie enthielten je 30 ccm Nährlösung. Die Kölbchen wurden durch dreimaliges, jeweils 30 Min. langes Erhitzen im Dampftopf sterilisiert. Nach 24 Stunden wurde die Nährlösung mit 20 mm^2 großen, mit einem Korkbohrer aus bewachsenen Petrischalen ausgestochenen Agarplättchen beimpft und bei 21 °C im Brutschrank aufbewahrt. Der Versuch wurde mit 5 Wiederholungen angelegt und nach 4 Wochen bonitiert.

In einem Parallelversuch wurde der Asparaginstickstoff durch äquivalente Mengen NH_4NO_3 ersetzt. In der Nährlösung mit NH_4NO_3 als Stickstoffquelle war das Wachstum etwas geringer als in derjenigen mit Asparagin.

Beide Versuchsreihen führten zu demselben Ergebnis (s. Tab. 1). *D. populea* kann unter den oben angeführten Bedingungen nur Maltose als Kohlenstoffquelle verwerten.

Daß Maltose, aber nicht Glukose verwertet werden kann, erschien überraschend. Es erhob sich daher die Frage, ob etwa die verwendete Maltose (Merck Nr. 5911) einen Wirkstoff als Verunreinigung enthielt und demnach ähnliche Verhältnisse vorlagen, wie sie SCHOPFER und BLUMER (1938) bei Maltose Kahlbaum fanden. Ich reinigte deshalb einen Teil der Maltose durch mehrmaliges Umkristallisieren in Alkohol und verwendete dieses Produkt zu einem neuen Versuch.

Tabelle 1

Verwertung von Zuckern als C-Quelle durch *D. populea* in Nährlösungen mit verschiedenen N-Gaben

Zucker	Asparagin	NH_4NO_3	N[1])
Glukose	0	0	5
Galaktose	0	0	5
l-Sorbose	0	0	5
Maltose	+	+	5
Saccharose	0	0	5

[1]) N = Zahl der Wiederholungen.
0 = kein Myzelwachstum.
+ = Myzelwachstum.

Tabelle 2

Myzeltrockengewichte von *D. populea* nach vierwöchigem Wachstum in Nährlösungen mit unterschiedlichen Zuckern

Zucker	$\bar{x}$	s	N
Maltose normal	66,42 mg	11,47	9
Maltose umkristallisiert	55,13	5,94	9
Glukose	3,44	11,43	9

N = Zahl der Wiederholungen.
$\bar{x}$ = Mittelwert des Myzeltrockengewichts in mg.
s = Streuung.

Nach 4 Wochen wurde das Myzel geerntet, getrocknet, gewogen und die Ergebnisse in Tabelle 2 zusammengestellt.

Die Unterschiede der Myzeltrockengewichte zwischen unkristallisierter und normaler Maltose sind im t-Test $t_{16(5\%)} = 2{,}60^{+}$ nicht ausreichend gesichert. Das Wachstum ist also nicht auf einen Wirkstoff zurückzuführen, sondern muß in einer spezifischen Bevorzugung der Maltose begründet sein.

Zu klären wäre nunmehr, ob die Maltose als ganzes Molekül verwertet wird (Rippel-Baldes 1955, S. 214) oder ob zuerst eine Spaltung in Glukose erfolgt.

Dazu diente ein Versuch mit vier Wiederholungen, in dem das Myzel nach 4 Wochen geerntet, getrocknet, gewogen und das Kulturfiltrat papierchromatographisch auf seinen Zuckergehalt untersucht wurde. Die Extinktionswerte der Chromatogramme wurden auf Millimeterpapier aufgetragen und die Flächen miteinander verglichen (Herrmann und Raths 1956). Die Myzeltrockengewichte sind in Tabelle 3 zusammengestellt.

Tabelle 3

Myzeltrockengewichte verschiedener Zuckerkombinationen und Konzentrationen

Zucker											
Glukose %	1				0,5			0,9		0,9	0,5
Fruktose %		1				0,5			0,9	0,1	0,5
Maltose %			1	0,5	0,5	0,5	0,1	0,1	0,1		0,1
Trockengewicht $\bar{x}$ in mg	1,0	1,0	50,1	21,1	25,6	27,7	5,4	9,8	7,3	2,1	8,3

Wie aus Tabelle 3 ersichtlich, steigen die Myzeltrockengewichte mit steigendem Maltosegehalt der Nährlösungen. Nach varianzanalytischen Berechnungen sind die Abweichungen innerhalb der Kombinationen mit Maltose 0,5 % bzw. 0,1 % zufällig bzw. nicht ausreichend gesichert. Die Zugabe verschiedener Zucker zur Maltosenährlösung ergab kein besseres Wachstum.

Aus dem Chromatogramm (Abb. 1) ist weiterhin ersichtlich, daß die Maltose durch den Pilz in Glukose gespalten wird.

Nr. 1 des Chromatogramms zeigt die unverbrauchte 1%ige Glukosenährlösung vor, Nr. 2 die gleiche Nährlösung nach Beimpfung. Größe und Intensität der Farbflecke sind in beiden Fällen gleich. Der Pilz hat keine Glukose verwertet. Nr. 3 und 4 stellen die Parallelreihe mit 1 % Fruktose dar; auch sie wurde nicht verwertet. Nr. 5 zeigt die unverbrauchte 1%ige

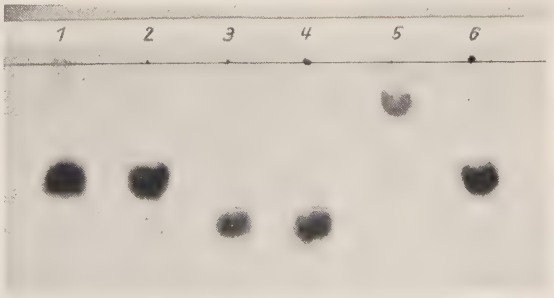


Abb. 1. Chromatogramm der Nährlösung vor und nach Pilzwachstum. 1. unbeimpfte Glukosenährlösung, 2. beimpfte Glukosenährlösung, 3. unbeimpfte Fruktosenährlösung, 4. beimpfte Fruktosenährlösung, 5. unbeimpfte Maltosenährlösung, 6. beimpfte Maltosenährlösung

Maltosenährlösung, Nr. 6 die vom Pilz bewachsene ebenfalls 1%ige Maltosenährlösung.

Im Gegensatz zur Glukose Nr. 1 und 2 (bzw. Fruktose Nr. 3 und 4) tritt unter Einwirkung des Pilzes Spaltung von Maltose in Glukose ein. Daß es sich hierbei nicht nur um eine bloße Spaltung handelt, sondern auch ein Teil der gespaltenen Maltose (Glukose) verwertet wird, zeigten die Flächenvergleiche der Extinktionswerte (Abbildung 2).

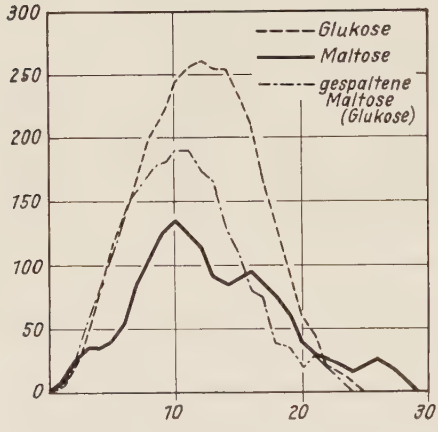


Abb. 2. Extinktionswerte von Glukose, Maltose und Maltose gespalten (Glukose). Ordinate: Extinktionswert, Abszisse: Flekken-Durchmesser

In einem weiteren in Tabelle 4 dargestellten Versuch prüfte ich neben Maltose und Glukose auch die wasserlösliche Stärke auf ihre Verwertung. Zu einem Teil der Stärkelösung wurde Diastase Merck Nr. 3020 hinzugefügt, nach 24 Stunden die Nährlösung beimpft und das Myzel nach drei Wochen geerntet.

Nach Tabelle 4 liegen die Myzeltrockengewichte der Nährlösung mit Maltose am höchsten; es folgen diejenigen der Stärke + Diastase, der Stärke und zum Schluß die der Glukose. Da der Pilz, wenn auch nur in geringem Maße, in der Stärkenährlösung wächst, muß er sie spalten können.

Einen Einblick in diese Verhältnisse gestattet das in Abbildung 3 wiedergegebene Chromatogramm.

Unter Nr. 1 des Chromatogramms wurde 2%ige Glukosenährlösung aufgetragen, unter Nr. 2 2%ige Stärkenährlösung, unter Nr. 3 Stärkenährlösung + Diastase, unter Nr. 4 Stärkenährlösung mit dem Pilz beimpft, unter Nr. 5 Stärkenährlösung + Diastase + Pilzinokulum und unter Nr. 6 nochmals 2%ige Glukosenährlösung. Bei Spaltung der Stärke verwertet der Pilz von der dabei offenbar entstehenden Maltose (Nr. 4 angedeutet durch grau) wiederum nur einen Teil der Glukose, denn Glukose (Nr. 4) wird im Chromatogramm nachgewiesen. Wird die Stärke jedoch durch zuge-

Tabelle 4

Myzeltrockengewichte
aus Nährlösungen mit unterschiedlichen Zuckern

Maltose	Stärke + Diastase	Stärke	Glukose
127,5 mg	63,4	49,9	25,4
148,7	53,6	33,8	19,6
116,2	94,0	31,4	18,9
151,7	64,4	44,8	22,7
136,02	68,85	39,97	21,65 $\bar{x}$
17,04	17,46	8,80	2,99 s

setzte Diastase gespalten (Nr. 3), so kann der Pilz die dabei abgespaltene Glukose verwerten (Nr. 5), während die gleichzeitig abgespaltene Maltose (Nr. 5) nicht angegriffen wird.

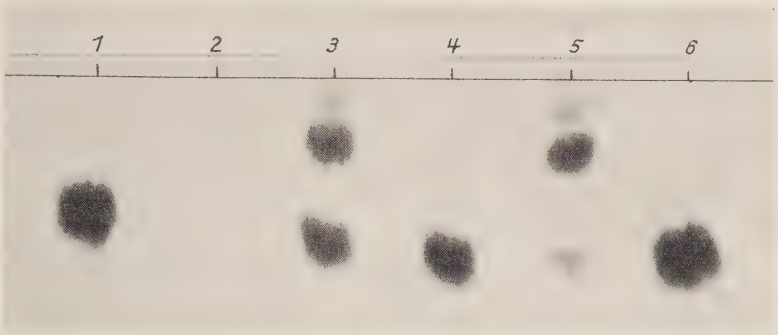


Abb. 3. Chromatogramm der Zucker- und Stärkenährlösung vor und nach Beimpfung mit *D. populea*. 1 Glukose, 2 Stärke, 3 Stärke + Diastase, 4 Stärke + Pilz, 5 Stärke + Pilz + Diastase, 6 Glukose

Es ist anzunehmen, daß der Abbau der Maltose (und auch der Stärke) auf dem Wege der phosphorolytischen Spaltung erfolgt (Meyerhof 1948, Myrbäck 1953, Lehnartz 1952), wobei der Pilz nur die energiereichere Glukosephosphorsäure verwertet. Aus diesem Grunde wurde der Grundnährlösung Glukose-1-phosphat (Coriester) zugesetzt. Danach kann der Pilz auch Glukose-1-phosphorsäure verwerten. Das beste Wachstum erfolgt wiederum auf Maltose, während es auf Glukose minimal ist.

b) mit Aminosäuren

Da die Entwicklung von *D. populea* in den bisher verwendeten Nährlösungen nicht befriedigte, prüfte ich ihr Wachstum in einer Nährlösung nach Czapek-Dox (Vogel 1951) folgender Zusammensetzung:

3 g	$NaNO_3$	0,01 g	$FeSO_4$
1 g	KH_2PO_4	0,005 g	$ZnSO_4$
0,5 g	$MgSO_4$	10,0 g	Maltose
0,5 g	KCl	1000 ccm	Aqua dest.

Sie enthält etwas mehr Maltose als eine 2%ige Biomalznährlösung. (Nach den Angaben der Fa. Patermann, der Herstellerin des von mir verwendeten Biomalzes, enthalten 100 g Biomalz 38,8 g Maltose, 17,0 g Dextrine und 10,9 g Glukose.)

Zum Vergleich diente das Wachstum des Pilzes in einer 2%igen Biomalznährlösung und in einer Czapek-Dox-Nährlösung ohne Maltose, aber unter Zusatz von 2 % Biomalz. Das Ergebnis ist in Tabelle 5 zusammengestellt.

Das Myzelgewicht des Pilzes erreichte in der Biomalznährlösung etwa das Dreifache des Gewichtes der Czapek-Dox-Nährlösung, während es durch einen Zusatz von 2 % Biomalz zu der letzteren trotz Fortlassens der Maltose

Tabelle 5

Wachstum von *D. populea* in Czapek-Dox- und Biomalznährlösung[1])

Czapek-Dox	Biomalz	Czapek-Dox ohne Maltose + Biomalz
49,2	190,8	478,6
42,9	154,0	45 ,2
54,4	136,4	528,
44,3	1>0,8	53 ,8
48,1	156,4	595,4
47,38	16>,68	519,20 $\bar{x}$

[1]) Trockengewichte in mg.

auf das Zehnfache gesteigert wurde. Das Biomalz muß demnach Stoffe enthalten, die das Wachstum des Pilzes stark fördern. Zu denken ist an Aminosäuren oder an Wirkstoffe.

Folgende Aminosäuren konnten papierchromatographisch im Biomalz festgestellt werden: Leucin, Phenylalanin, Tyrosin, Prolin, γ-Aminobuttersäure, als Gruppen Methionin, Valin, Asparaginsäure, Glutaminsäure und Serin. Diese Ermittlungen decken sich sehr gut mit den Angaben der Fa. Patermann.

Ob eine einzelne oder eine Gruppe von Aminosäuren das Wachstum besonders beeinflußt, sollten Versuche mit folgenden Aminosäuren klären: Asparaginsäure, Glutaminsäure, Glycokoll, Alanin, γ-Aminobuttersäure, Valin, Methionin und Leucin. Sie wurden jeweils der Czapek-Dox-Nährlösung zugesetzt. Nach 4 Wochen wurde das Myzeltrockengewicht in fünf Wiederholungen bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 6 zusammengestellt.

Danach lassen Zusätze von γ-Aminobuttersäure, Valin, Methionin und Leucin das Gewicht ansteigen. Da diese Zusätze aber gleichzeitig den pH-Wert der Nährlösung verändern und, wie später gezeigt wird, *D. populea*

Tabelle 6

Kombination der Aminosäuren in Czapek-Dox-Nährlösung mit verschiedenen Wirkstoffen

Nr.									$\bar{x}$	pH
1	Asp.	Glut.	Glyc.	Ala.	Am.	Val.	Meth.	Leuc.	78,22	4,2
2	Asp.	Glut.	Glyc.	Ala.	Am.	Val.	Meth.		6,84	4,2
3	Asp.	Glut.	Glyc.	Ala.	Am.	Val.			87,14	4,2
4	Asp.	Glut.	Glyc.	Ala.	Am.				8 14	4,0
5	Asp.	Glut.	Glyc.	Ala.					11,82	3,6
6	Asp.	Glut.	Glyc.						7,82	3,6
7	Asp.	Glut.							6,10	3,6
8	Asp.								8,56	3,6
9	Czapek-Dox								44,80	5,2

bei einem pH-Wert von 3,6 nur noch sehr gering wächst, ist wahrscheinlich diese Reaktionsänderung die Ursache des gesteigerten Wachstums.

Vergleicht man die Myzeltrockengewichte aus den Aminosäurekombinationen 1 bis 4 varianzanalytisch miteinander (Tab. 7), so erhält man eine für Laborversuche nicht mehr ausreichende Sicherung von F = 5 %. Die großen Streuungen der Myzeltrockengewichte könnten vermuten lassen, daß die für die Versuche verwendete Herkunft vielleicht ein Gemisch von mehreren Stämmen darstellt, die die Aminosäuren unterschiedlich verwerten.

Tabelle 7

Varianzanalytische Auswertung der Myzeltrockengewichte aus den Aminosäurekombinationen 1—4 von Tabelle 6. N = 5

Varianz	SQ	n	s^2	F	$F_{(5\%)}$
Total	46246,77	19			
Zwischen den Gruppen ..	822,17	3	274,02	$13,80^{+}$	8,69
Rest	45424,60	16	3782,28		

Ein Vergleich der Myzeltrockengewichte der Kontrolle (Czapek-Dox-Nährlösung) in t-Test mit denjenigen der Aminosäuren (1 bis 4) ergibt eine Sicherung von $t = 3,67^{++}$, $t_{v1\,\%} = 3,04$. [Da eine Inhomogenität vorlag, mußte eine Transformation nach COCHRAN und COX (SNEDECOR 1956) durchgeführt werden]. Die Aminosäuren (Kombinationen 1 bis 4) bewirken demnach eine deutliche Wachstumssteigerung gegenüber der Kontrolle.

Um festzustellen, ob auch diejenigen Aminosäuren, deren Wirkung offensichtlich durch den pH-Wert beeinträchtigt worden ist, das Wachstum anregen, stellte ich diesen auf 5,2 ein. Die varianzanalytische Auswertung dieses Versuches zeigt Tabelle 8.

Tabelle 8

Varianzanalytische Auswertung der Myzeltrockengewichte aus Aminosäurekombinationen 5—8 bei gleichem pH-Wert. n = 4

Varianz	SQ	n	s^2	F
Total	4086,40	19		
Zwischen den Gruppen	1070,10	4	267,59	$1,33^{\circ}$
Rest	3016,30	15	201,06	

Zwischen der Kontrolle (Czapek-Dox-Nährlösung) und den Myzeltrockengewichten aus den Aminosäurekombinationen Nr. 5 bis 8 der Tabelle 6 besteht kein gesicherter Unterschied, sie rufen also auch bei angeglichenem pH-Wert keine Wachstumssteigerung hervor.

Die zwar nicht ausreichende, aber doch angedeutete Sicherung zwischen den Aminosäurekombinationen 1 bis 4 veranlaßte mich zu einem in der

Anlage gleichen Versuch mit folgender Variation in der Zusammenstellung der Aminosäuren:

γ-Aminobuttersäure + Leucin
γ-Aminobuttersäure + Methionin
γ-Aminobuttersäure + Valin
γ-Aminobuttersäure + Valin + Methionin
γ-Aminobuttersäure + Methionin + Leucin
γ-Aminobuttersäure + Methionin + Leucin + Valin
Valin + Methionin Leucin + Methionin
Valin + Leucin Leucin + Methionin + Valin

Die varianzanalytische Auswertung dieses Versuches bringt Tabelle 9.

Tabelle 9

Varianzanalytische Auswertung der Myzeltrockengewichte aus Nährlösungen mit verschiedenen Aminosäuren. N = 4

Varianz	SQ	n	s^2	F	$F_{(5\%)}$
Total	45016,94	55			
Zwischen den Gruppen ..	22847,40	13	1757,49	2,40+	2,69
Rest	22169,54	42	731,29		

Auch hier fallen wiederum die großen Streuungen auf, die eine Sicherung von nur p = 5 % ergeben, so daß man annehmen darf, daß die hier verwendeten Aminosäuren in ihrer Wirkung auf das Wachstum von *D. populea* untereinander gleichwertig sind. Die angeführten Versuche lassen erkennen, daß einige Aminosäuren zwar eine geringe Wachstumssteigerung hervorrufen, für das bessere Wachstum des Pilzes auf Biomalz aber nicht allein verantwortlich sein können. Deshalb lag es nahe, den besonderen Wachstumseffekt dieses Mediums auf Wirkstoffe zurückzuführen.

c) mit Wirkstoffen

Nach den Angaben der Fa. Patermann enthalten 100 g Biomalz:

Cholin	72	mg	Pantothensäure	500	γ
Thiamin (B_1)	5	mg	Biotin	5,4	γ
Riboflavin (B_2)	5	mg	p-Aminobenzoësäure	62,5	γ
Niacinamid	25	mg	Folsäure	68,0	γ
Vit. B_6-Komplex	1,64	mg	Inositol	35,0	γ
Cobalamin	32	mγ			

Von diesen Substanzen wurden folgende in Konzentrationen, in denen sie auch im Biomalz enthalten sind, einer Grundnährlösung (Czapek-Dox) zugesetzt:

Thiamin
Riboflavin
Nikotinsäureamid
d-(+)-pantothensaures Calcium (an Stelle von Pantothensäure)
p-Aminobenzoësäure

Der Versuch wurde in der bereits beschriebenen Weise (S. 62) durchgeführt. Seine Anordnung geht aus Tabelle 10 hervor, in der die Myzeltrockengewichte nach vierwöchiger Kulturdauer zusammengestellt sind.

Sämtliche verwendeten Wirkstoffe haben weder einzeln noch in Kombination miteinander das Wachstum von *D. populea* gegenüber der Czapek-Dox-Nährlösung gesteigert. Das beste Wachstum zeigte der Pilz in der Biomalznährlösung.

Tabelle 10

Wachstum von *D. populea* in Czapek-Dox-Nährlösung mit verschiedenen Wirkstoffen

(Trockengewicht in mg)

Thiamin	Riboflavin	Pantothen.	p-Amino.	$B_1 + B_2$	B_1 + Pantoth.	
38,4	36,0	39,3	47,3	40,8	37,8	
42,8	21,9	48,4	38,3	36,7	50,0	
40,8	36,0	39,2	26,2	35,5	51,3	
38,6	32,6	38,6	43,7	22,6	42,6	
40,15	31,62	41,37	38,87	33,90	45,42	$\bar{x}$
2,07	6,68	4,69	9,22	7,86	6,41	s

B_1 + p-Am.	B_2 + Pant.	B_2 + p-Amino.	Pan. + p-Am.	$B_1 + B_2$ + Pa.	$B_1 + B_2$ + Am.	
45,1	54,4	48,6	39,8	34,7	35,2	
56,3	59,6	53,5	43,1	31,5	38,3	
45,6	40 4	49,1	58,4	28,9	27,8	
35,0	29,0	34,0	44,0	25,3	44,8	
45,50	45,85	46,30	46,32	30,10	36,52	$\bar{x}$
8,69	13,85	8,84	8,24	3,97	6,81	s

B_1+B_2+p-Am Pantoth.	Nikotins.	B_1+B_2+p-Am+ Pant. + Nicot.	Biomalz 2 %	Czapek-Dox	
26,3	43,6	31,6	117,7	49,2	
35,6	37,0	54,0	143,8	42,9	
29,6	54,4	39,2	119,9	54,4	
39,2	55,6	29,2	115,1	44,3	
32,67	47,65	38,50	124,12	47,70	$\bar{x}$
5,80	8,91	11,17	15,30	5,24	s

In einem weiteren Versuch wurden Cholin, Folsäure und Inositol einer Czapek-Dox-Nährlösung zugesetzt. Nach 6 Wochen haben auch diese Wirkstoffe das Wachstum nicht gefördert (s. Tab. 11).

Ob die restlichen nicht geprüften Wirkstoffe für das bessere Wachstum in der Biomalznährlösung verantwortlich sind, muß dahingestellt bleiben.

Tabelle 11

Wachstum von *D. populea* in Czapek-Dox-Nährlösung mit verschiedenen Wirkstoffen (Myzeltrockengewichte in mg)

Cholin	Inositol	Folsäure	Chol. + Inos.	Fols. + Inos.	Fols. + Inos. + Chol.
125,3	110,0	104,2	107,8	116,3	104,3
112,5	77,9	92,3	98,0	105,6	97,3
113,0	90,9	95,7	103,3	99,8	102 3
79,0	112,7	84.7	89,4	68,7	113,0
107,45	97,87	94,22	99,62	97,60	104,22 $\bar{x}$

Chol. + Fols.	Biomalz	Czapek-Dox
109,0	328,3	115,8
125,1	254,6	91,9
124,7	222,8	122,3
—	306,8	124,8
119,60	278,12	113,70 $\bar{x}$

d) mit Pappelrindenextrakt

Da die synthetischen Nährböden und Biomalz die Forderung nach einem schnellen und vor allem gleichmäßigen Wachstum von *D. populea* nicht erfüllten, ging ich für die weiteren Untersuchungen zu einem natürlichen Nährboden über, indem ich Pappelrindenextrakt verwendete. Dieser wurde aus 200 g frischer, im Homogenisator zerkleinerter Pappelrinde und 350 ccm Aqua dest. hergestellt. Der so entstandene Rindenbrei blieb 12 Stunden bei 4 °—5 °C stehen, wurde anschließend mit 200 atü ausgepreßt, 40 Minuten bei 0,75 atü sterilisiert und bis zu seiner Verwendung kühl aufbewahrt. Zur Anwendung gelangte er in 10%iger Konzentration. Pappelrindenextraktagar erfüllt am besten die Forderung gleichmäßig schnellen Wachstums, ohne daß vorerst gesagt werden kann, welche Stoffe dabei entscheidend mitwirken.

2. Prüfung biologischer Eigenschaften verschiedener Herkünfte von *D. populea*

a) Abhängigkeit des Wachstums von *D. populea* von der Temperatur

Zu Beginn meiner Arbeit waren für *D. populea* noch keine Temperaturkurven bekannt. Es lag deshalb nahe, zu prüfen, ob die Temperaturansprüche der Herkünfte zu ihrer Differenzierung als Unterscheidungsmerkmal herangezogen werden können.

Die Versuche wurden mit je 5 Wiederholungen in genormten Petrischalen (Jenaer Glaswerke Schott & Gen., Mainz, Nr. 4210/100 × 20) mit je 13 ccm Pappelrindenextraktagar (10 % Pappelrindenextrakt und 1,8 % Agar) angelegt. Die Petrischalen wurden mit einer 20 mm² großen, myzelbewachsenen Agarscheibe jeder Herkunft beimpft, in einem Reihenthermostaten bei 4,5,

10, 15, 22, 25 und 30 °C vier Wochen gehalten und anschließend die bewachsene Fläche mit dem Planimeter ausgemessen. Die Versuche wurden in einem Abstand von 4 Monaten dreimal wiederholt.

Die in Abbildung 4 wiedergegebenen Wachstumskurven für 9 Herkünfte stellen das Mittel aus je 10—15 Einzelwerten dar. Auf der Ordinate ist die von den Pilzherkünften bewachsene Fläche in cm^2, auf der Abszisse die Temperatur in °C aufgetragen.

Alle Herkünfte erreichen bei 4,5 °C ihr Wachstumsminimum, bei 25 °C ihr Optimum und bei 30 °C ihr Maximum. Sie sind im Optimum gut, im Minimum und Maximum dagegen nicht voneinander zu trennen. Nach der Wachstumsgeschwindigkeit im Optimum lassen sich eine Spitzengruppe mit einer verhältnismäßig großen (Herkunft VI und VII), eine Mittelgruppe mit einer mittleren und eine Endgruppe mit einer geringen Wachstumsgeschwindigkeit unterscheiden.

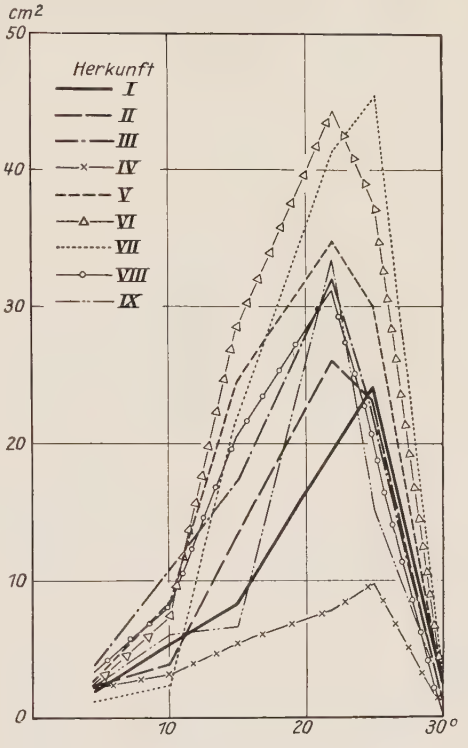


Abb. 4. Wachstumskurven von neun Herkünften von *D. populea* nach vier Wochen auf Pappelrindenextraktagar

Darüber hinaus haben 3 der 9 Herkünfte ihr Wachstumsoptimum bei 25 °C (Herkunft I, IV, VII), die übrigen 6 bei 22 °C. Bemerkenswert erscheint ferner der unterschiedliche Anstieg der Kurven zwischen 10 und 15 °C, d. h. in dem Temperaturbereich, der, wie später gezeigt wird, für die Besiedlung des Wirts besonders kritisch ist. Die Herkünfte II, III, V, VI und VII sind in diesem Bereich außerordentlich temperaturempfindlich, sie reagieren auf geringe Temperatursteigerungen mit starker Zunahme der Wachstumsgeschwindigkeit. Die Herkünfte I, IV und IX dagegen sind temperaturträge und zeigen innerhalb dieses Temperaturbereiches mit steigender Temperatur keine oder nur sehr geringe Wachstumsbeschleunigung.

b) Verfärbung der Pappelrindenextraktnährlösung

Bei Temperaturversuchen auf Pappelrindenextraktagar mit verschiedenen Herkünften von *D. populea* fiel eine unterschiedliche Verfärbung des Nährbodens auf, wobei zwischen Intensität von Verfärbung und Wachstum offenbar keine Parallelität bestand.

Die Intensität der Verfärbung wurde photometrisch (Photometer Eppendorf, Fa. Netheler & Hinz G.m.b.H., Hamburg 20) mit Filter Hg 546 und

Küvette 322 B in 5 Wiederholungen gemessen und als Standard die unbeimpfte Nährlösung aus 100 ccm Pappelrindenextrakt und 1000 ccm Aqua dest. verwendet.

Erlenmeyerkölbchen mit je 50 ccm Nährlösung wurden mit den einzelnen Herkünften, die auf Biomalzagar angezogen waren, beimpft.

3 und 6 Tage nach Beimpfen der Kölbchen wurden je 4 ccm Kulturflüssigkeit mit einer sterilen Pipette entnommen und die Intensität ihrer Verfärbung bestimmt (s. Abb. 5).

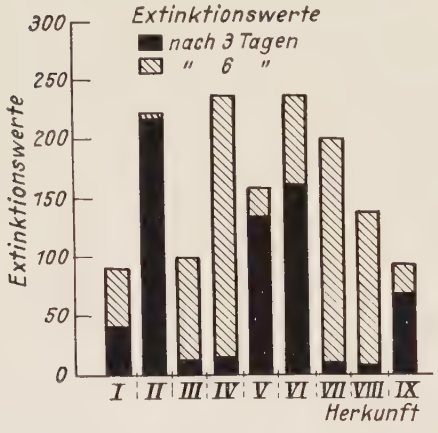


Abb. 5. Extinktionswerte einer Pappelrindenextraktnährlösung drei und sechs Tage nach Beimpfen mit verschiedenen Herkünften von *D. populea*

Nach 3 Tagen liegen die Werte für die Herkünfte I, III, IV, VII und VIII sehr niedrig und dicht beieinander, so daß sie zunächst voneinander nicht zu unterscheiden sind, während die Werte der Herkünfte II, V, VI und IX weit höher sind und unter sich stark differieren.

Nach 6 Tagen liegen die Werte der Herkünfte I, III und IX immer noch verhältnismäßig niedrig und dicht beieinander; diejenigen der Herkünfte IV bzw. VII bzw. VIII sind sehr stark angestiegen, während die Werte der Herkünfte II und V nahezu unverändert geblieben sind und derjenige der Herkunft VI sich um etwa 50 % erhöht hat.

Nach der Verfärbung der Nährlösung konnten somit nach 3 Tagen 3 Herkünfte (I, II, IX) von den übrigen gut unterschieden werden; 6 Tage später ließen sich die voneinander anfänglich nur schwer zu unterscheidenden Herkünfte (III, IV, V, VII, VIII) gut voneinander differenzieren.

Da die Geschwindigkeit der Verfärbung verschieden ist, scheint es angebracht, die Messungen nach 3 und 6 Tagen vorzunehmen.

c) Pathogenität an Pappelstecklingen

Nach Temperaturansprüchen und Verfärbungsgeschwindigkeit der Nährlösung ist eine klare Unterscheidung der Herkünfte von *D. populea* in vitro möglich. Nunmehr erhebt sich die Frage, wie sich die Herkünfte auf ihrem natürlichen Nährboden, der Wirtspflanze, verhalten: bleiben die in vitro gefundenen Unterschiede auf ihr ebenso deutlich erhalten, besteht eine Beziehung zwischen Verhalten in Nährlösung und Pathogenität, oder sind die Herkunftsunterschiede minimal, so daß die Herkünfte auf der Pappel keine große Rolle spielen.

Es wurden Pappelstecklinge gleicher Länge (30 cm) und etwa gleichen Frischgewichts (46,90 g) der Sorte „Robusta" in je 10 Wiederholungen während der Vegetationsruhe (Anfang November) geschnitten.

Zur Infektion wurde die Rinde mit einem sterilen Messer bis auf das Kambium halbmondförmig angeschnitten, in die so entstandene Wunde eine 20 mm² große myzelbewachsene Agarscheibe der entsprechenden Herkunft gelegt und die Wunde mit einem Heftpflaster verschlossen. Jeder Steckling erhielt zwei von den Enden gleich weit entfernte Inokulationen. Da die Resistenz der Pappel gegenüber *Cytospora chrysosperma* durch Wasserverlust beeinträchtigt wird (Butin 1955), widmete ich diesem besondere Beachtung. Die Enden der Stecklinge verstrich ich mit Baumwachs und stellte das Frischgewicht jedes Stecklings fest.

Der Gesamtwassergehalt der Stecklinge, bezogen auf das Frischgewicht, betrug 51,60 %. (10 Stecklinge wurden wahllos herausgegriffen und das Trokkengewicht bestimmt).

Nach der Infektion standen die Stecklinge in einer vollautomatischen Klimakammer bei 10 °C und 98 % relativer Luftfeuchtigkeit. 8 Wochen später wurde der Wasserverlust ermittelt, dann die von den Pilzherkünften abgetötete Rindenfläche auf Papier übertragen und mit dem Planimeter ausgemessen. Mikroskopische Untersuchungen erbrachten den Beweis, daß *D. populea* die Rinde abgetötet hatte.

Die in Abbildung 6 graphisch dargestellten Ergebnisse des Versuches stellen die Mittelwerte aus je 20 Einzelwerten dar. Auf der Ordinate sind die von den Pilzherkünften abgetöteten Rindenflächen (schwarze Säulen) in cm², auf der Abszisse die Herkünfte aufgetragen. Zusätzlich wurde neben jede Pilzherkunft noch der mittlere prozentuale Gewichtsverlust (weiße Säule) des Frischgewichtes eingezeichnet.

Er liegt um 15 % und zeigt keine großen Schwankungen, so daß von ihm keine nennenswerte Beeinflussung der Pathogenitätsunterschiede zu erwarten ist.

Auch die Pathogenität erlaubt eine klare Unterscheidung der Herkünfte; sie lassen sich zu einer stark (II, V, VI), einer mittel (I, VII, VIII) und einer schwach pathogenen Gruppe (III, IV, X) zusammenfassen.

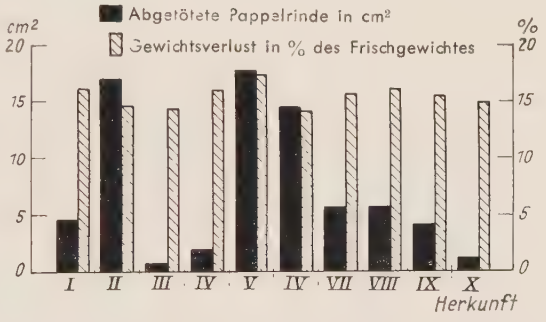


Abb. 6. Pathogenitätsunterschiede von zehn auf Pappelstecklinge gleicher Sorte (Robusta) und gleicher Beschaffenheit geimpften Herkünften von *D. populea*

Bemerkenswert ist die außerordentlich gute Übereinstimmung zwischen Pathogenität und Verfärbung der Pappelrindenextraktnährlösung nach 3 Tagen: diejenigen Herkünfte, die eine starke Verfärbung der Nährlösung hervorrufen, besitzen auch die größte Pathogenität. Entsprechendes gilt für die mittel- und schwach-pathogenen Herkünfte.

III. INFEKTIONSVERSUCHE

Die von VAN VLOTEN 1938, SCHÖNHAR 1952, 1953 und SCHMIDLE 1954 mit *D. populea* durchgeführten Infektionsversuche an verletzten Pflanzen waren während der Vegetation durchweg positiv; mit Einsetzen der Vegetationsruhe nahm jedoch die Anfälligkeit der Pappel gegenüber *D. populea* ab. Die Gegenreaktion der Pflanze führt SCHMIDLE auf das Überwallungswachstum zurück, während BUTIN 1955 die Wundperidermbildung als Abwehrreaktion auch gegen *D. populea* diskutiert.

Da diese Vermutungen experimenteller Unterlagen entbehrten, suchte ich zunächst den Abwehrmechanismus der Pappel gegenüber *D. populea* zu klären.

1. Myzelinfektionen

Pflanzen wurden im Gewächshaus in Mitscherlichgefäßen angezogen, die mit 1 kg trockenem Sand, anschließend mit 4 kg Fruhstorfer-Einheitserde (im Verhältnis 1 : 1 mit Sand gemischt) gefüllt und als Verdunstungsschutz mit 1 kg Sand abgedeckt wurden. Die Wasserkapazität des Bodens lag bei 46 %, der pH-Wert bei 5,2. In jedes Gefäß wurden 4 Stecklinge der Sorte „Robusta", 30 cm lang und 1,5 cm stark, eingesetzt.

Die Pflanzen wurden nach der auf S. 73 beschriebenen Methode mit Herkunft VI infiziert.

a) Infektionsversuche bei verschiedenen Temperaturen

HILF 1955 und FRANKEN 1955 suchen die Ursache für das starke Auftreten von *D. populea* in vergangenen großen Temperaturschwankungen, die, vornehmlich bei Frostwechseltagen, die Pflanzen besonders geschwächt und die Bedingungen für das verbreitete Auftreten des Pilzes geschaffen haben sollen.

Ich untersuchte deshalb zunächst den Einfluß der Temperatur auf die Anfälligkeit der Pflanze.

Von je 12 Pappeln (Trieblänge 15—20 cm) wurden 9 infiziert (je Pflanze 1—4 Infektionen), während 3 als Kontrollen dienten. Sie wurden in zwei vollautomatische Klimakammern I und II gestellt. In II wurde die Temperatur konstant bei 21 °C gehalten, während die in I herrschenden Temperaturen aus Tabelle 12 ersichtlich sind.

Tabelle 12

Temperatur in Klimakammer I

1. Woche	3—30 °C	tägliche Schwankung
2. Woche	3—20 °C	
3. Woche	3—10 °C	
4. Woche	10 °C	konstant
5. Woche	5—10 °C	3 Tage 5° C, 3 Tage 10 °C
6. Woche	5 °C	konstant

Die Ergebnisse nach 6 Wochen sind in Tabelle 13 zusammengestellt.

Tabelle 13

Infektionen an jungen Pappelpflanzen bei schwankenden und konstanten Temperaturen

Gefäß Nr.	Schwankende Temperatur (I)			Konstante Temperatur (II)		
	negativ —	positiv +	Infektionen insgesamt	negativ —	positiv +	Infektionen insgesamt
1	2	6	8	12	0	12
2	2	5	7	8	0	8
3	0	8	8	11	0	11
Σ	4	19	23	31	0	31
			Kontrollpflanzen			
1	4	0	4	4	0	4
2	3	0	3	3	0	3
3	4	0	4	3	0	3
Σ	11	0	11	10	0	10

Als positiv wurden Infektionen gewertet, bei denen der Pilz gut sichtbar (etwa 3 mm) über die Infektionsstelle hinausgewachsen war und die Rückisolierung gelang. Infektionen bei schwankenden Temperaturen (Kammer I) fielen positiv, solche bei konstanter Temperatur von 21 °C (II) negativ aus.

Die Wunden an den Kontrollpflanzen waren bei konstanter Temperatur vollkommen von Kallus überwallt und verheilt, während sie bei schwankenden Temperaturen offen und nicht ausgeheilt waren.

Tabelle 14

Abgetötete Rinde in cm² bei Temperaturschwankungen von 3 °C bis 20 °C

Infektionen an Pflanze	Mitscherlichgefäß					
	1	2	3	4	5	6
	3,60	3,60	2,50	1,82	2,80	2,44
1	4,16	2,50	3,00	2,80	2 60	2,00
	3,70	3,60	1,80	2,00	4,31	1,50
$\bar{x}$	3,82	3,23	2,43	2,20	3,23	1,98
	5,25	3,30	4,55	2,00	3,96	1,53
2	3,30	2,70	2,70	1,08	3,10	1,82
	4,41	3,90	3,30	2,49	2,44	2,00
$\bar{x}$	4,32	3,30	3,51	1,85	3,16	1,78
	3 64	3,00	2,41	2,24	2,11	1,82
3	3,00	2,80	2,25	2,75	1,80	1,80
	4,95	2,00	2,00	2,50	3,00	2,50
$\bar{x}$	3,86	2,60	2,22	2,49	2,30	2,04

Tabelle 15

Abgetötete Rinde in cm²
bei Temperaturschwankungen von 3 °C bis 10 °C

Infektionen an Pflanze	Mitscherlichgefäß					
	1	2	3	4	5	6
	2,00	0,78	1,03	0,96	0,66	1,02
1	1,91	0,60	1,20	0,70	0,77	1,12
	1,91	0,70	1,80	0,84	0,72	0,91
$\bar{x}$	1,94	0,69	1,34	0,83	0,71	1,01
	1,25	0,72	0,54	0,70	0,84	1,26
2	1,60	0,90	0,72	0,66	0,54	0,84
	1,40	1,05	0,40	0,84	0,63	1,05
$\bar{x}$	1,41	0,89	0,55	0,70	0,67	1,05
	0,75	0,40	0,82	0,63	0,63	1,05
3	0,65	0,24	0,66	0,30	0,72	0,96
	1,19	0,91	1,20	0,60	0,66	0,72
$\bar{x}$	0,86	0,52	0,89	0,51	0,67	0,91

In zwei weiteren Versuchen mit Temperaturschwankungen von 3—20 °C und 3—10 °C sollte die Ausbreitung des Pilzes im Wirtsgewebe untersucht werden. Für jeden Versuch wurden 18 Pflanzen an 3 Stellen infiziert, während 6 Pflanzen als Kontrollen dienten. Bei der Bonitierung wurde aus der gemessenen Länge und Breite die durch den Pilz abgetötete Rindenfläche berechnet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 14 und 15 zusammengestellt. Ein Vergleich der Mittelwerte bei Temperaturschwankungen von 3—20 °C bzw. 3 bis 10 °C zeigt, daß im ersten Fall die Fläche der abgetöteten Rinde erheblich größer ist.

b) Infektionsversuche bei konstanten Temperaturen

Nachdem die konstant bei 21 °C gehaltenen Pflanzen gesund geblieben waren, suchte ich diejenige Temperaturgrenze festzustellen, ab welcher die Abwehrreaktionen einen vollen Schutz der Pflanze gewähren.

Je 2 Mitscherlichgefäße mit je 3 infizierten (4. als Kontrolle) Pflanzen wurden in vollautomatischen Klimakammern bei 4, 12, 16 und 21 °C gehalten. Jede Pflanze wurde viermal am Stämmchen und einmal an einem grünen Seitentrieb infiziert. Da grüne Seitentriebe und Stämmchen gleichmäßig erkrankten, wurden die nach 5 Wochen gewonnenen Ergebnisse in Tabelle 16 vereinigt.

Demnach sind die Infektionen bis 12 °C positiv, von 16 °C ab negativ ausgefallen. Bei Temperaturen bis 12 °C ist aber die Anzahl positiver Infektionen auf 11 gegenüber 20 bei 4 °C zurückgegangen, so daß in diesem Temperaturbereich offenbar die Abwehrreaktionen bereits einsetzen.

Andererseits war aus den Tabellen 14 und 15 bereits auf eine enge Beziehung zwischen Pathogenität des Pilzes und Temperatur zu schließen, da

Tabelle 16
Infektionsversuche bei konstanten Temperaturen

Gefäß Nr.	4°C			12°C			16°C			21°C		
	—	+	Σ	—	+	Σ	—	+	Σ	—	+	Σ
1	4	11	15	9	6	15	15	0	15	15	0	15
2	4	9	15	10	5	15	15	0	15	15	0	15
Σ	10	20	30	19	11	30	30	0	30	30	0	30

die abgetötete Rindenfläche bei Temperaturschwankungen bis 20 °C wesentlich größer war als bei solchen bis 10 °C. Um diese Vermutung nachzuprüfen, wurden je drei infizierte und eine Kontrollpflanze, gemeinsam mit je 5 Erlenmeyerkölbchen, die mit Rindenextraktnährlösung beschickt und mit dem Pilz beimpft waren, in Klimakammern mit Temperaturen von 4, 10, 16 und 25 °C gebracht. Das Temperaturoptimum für das Myzelwachstum der Herkunft VI wurde bereits (vgl. S. 71) mit 22 °C ermittelt, so beschränkte ich mich zur Kontrolle auf ein Erlenmeyerkölbchen bei dieser Temperatur, das den Befund bestätigte.

Nach 6 Wochen wurden die abgetöteten Rindenflächen auf Zellophanpapier abgepaust, planimetriert und gleichzeitig das Myzel der Erlenmeyerkölbchen geerntet, getrocknet und gewogen. Die Versuchsergebnisse sind in Abbildung 7 graphisch dargestellt.

Auf den Ordinaten ist links die abgetötete Rindenfläche in cm², rechts das Myzelgewicht in mg, auf der Abszisse die Temperatur aufgetragen.

Mit steigender Temperatur nimmt das Myzeltrockengewicht zu, um seinen Höchstwert bei 22 °C zu erreichen (nicht eingetragen). Auch die abgetötete Rindenfläche wird zunächst größer, geht dann aber bereits bei 16 °C auf einen sehr geringen Wert zurück. Hier setzen die Abwehrreaktionen der Pflanze so stark ein, daß die Infektion nicht mehr zum Haften kommt. Der Wassergehalt der Pappelstämmchen, bezogen auf das Frischgewicht, betrug 52,11 % bzw. 53,10 % bzw. 53,57 %, kann also nicht für die Abnahme der abgetöteten Rindenfläche verantwortlich sein.

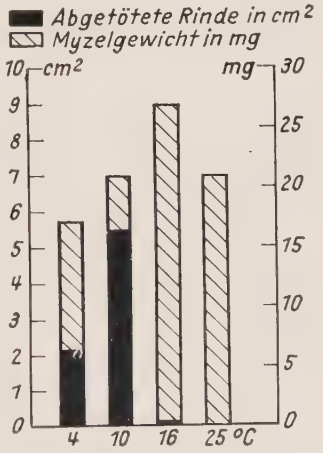


Abb. 7. Pathogenität und Myzelwachstum in Abhängigkeit von Reaktion der Pflanze und Temperatur

Mikroskopische Untersuchungen der Pflanzen bei 4 °C zeigten das in Abbildung 8 wiedergegebene Bild.

Rechts sind die abgetöteten Zellen des Rindenparenchyms zu erkennen. Sie sind durch Ausscheidungen des Pilzes braun gefärbt, ihr Inhalt ist koaguliert (Delacroix 1906). Zwischen toten und gesunden Zellen ist kein Wundperiderm gebildet; krankes Gewebe geht unvermittelt in gesundes über. In diesem Temperaturbereich ist die Pflanze noch reaktionsunfähig und kann von dem

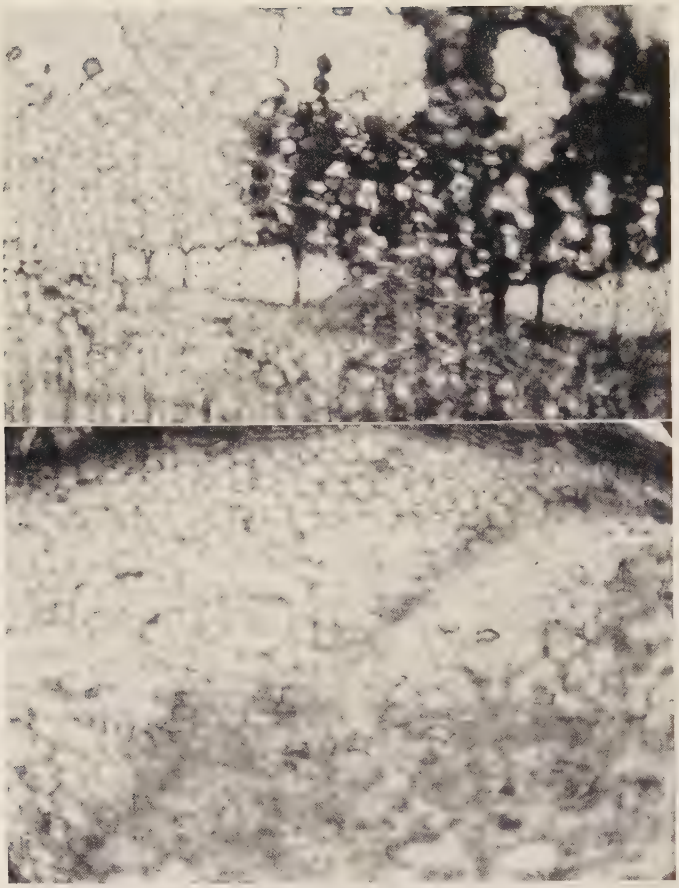


Abb. 8. Mikroaufnahme eines Querschnittes durch ein bei 4 °C infiziertes Pappelstämmchen (200×)

Abb. 9. Beginnende Verkorkung der Zellen bei 10 °C (200 ×)

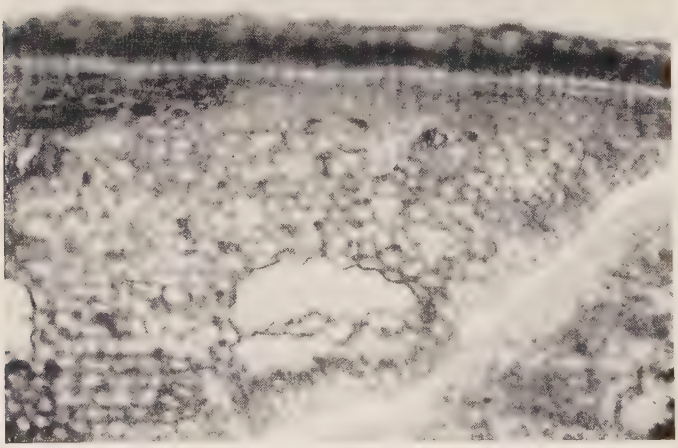


Abb. 10. Durch Wundkork abgekapselte *Dothichiza*-Infektion bei 16 °C (200×)

Pilz ungestört besiedelt werden. Giftstoffe diffundieren den Hyphen voraus, dringen widerstandslos bis zum Kambium vor, töten dieses ebenfalls ab und diffundieren in den Markstrahlen bis zum Mark weiter vor.

Bei 10 °C beginnt die Gegenreaktion der Pflanze. In einer Tiefe von etwa 20 an die Wunde angrenzenden Zellschichten nimmt der Zellinhalt körnige Struktur an (durch die Wässerung der Schnitte ist der körnige Zellinhalt stark herausgewaschen) und wird später von dem gesunden Gewebe abgegrenzt. Abbildung 9 zeigt die beginnende Verkorkung. Jedoch verläuft auch bei dieser Temperatur die Verkorkung der Zellen noch nicht so schnell, um den Pilz vollkommen abzuriegeln. Seine Toxine finden immer wieder Lükken, durch die sie hindurchdiffundieren, so daß sie das dahinterliegende Gewebe abtöten.

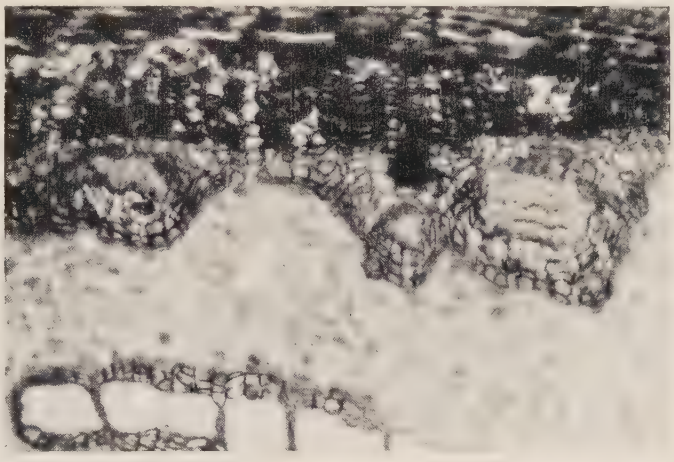


Abb. 11. Wundkorkbildung zwischen abgestorbenem und gesundem Gewebe bei 16 °C (200×)

Bei 16 °C schließlich vermag die Pflanze den Pilz abzuriegeln (Abb. 10). Wiederum sind im unmittelbaren Bereich der Wunde die Zellen verfärbt und abgetötet (links oben). Die anschließenden etwa 20 Zellschichten weisen körnigen Inhalt auf und sind von dem gesunden Gewebe durch Wundkork getrennt, dessen erste Zellreihen metakutinisiert (vgl. Küster 1925) werden. Er ist so stark ausgebildet, daß der Pilz ihn nicht mehr zu durchbrechen vermag und seine Giftstoffe und Hyphen an ihrer weiteren Ausbreitung gehindert werden (Abb. 11). Gelingt es dem Pilz, bis zum Holzkörper vorzudringen, so durchwuchern seine Hyphen nur das einjährige Holz (vgl. Detmers 1923, Klebahn 1937), wo sie in den Gefäßen gut zu sehen sind, während sie in den Siebröhren schwerer zu finden sind, da sie hier oft an die Zellwand angeschmiegt wachsen (Abb. 12). Junge Triebe kann der Pilz bis auf das Mark durchwuchern.

Um die Abwehrreaktionen der Pflanze noch besser verfolgen zu können, hielt ich eine bei 10 °C infizierte Pflanze nach erfolgreicher Infektion

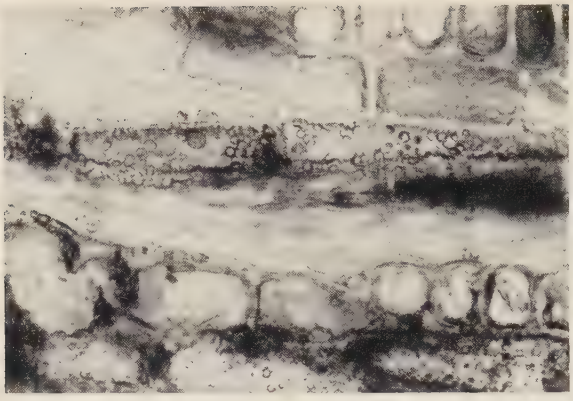


Abb. 12. An der Zellwand entlang wachsende Hyphen von *D. populea* (330×)

bei 25 °C. Ein Mikrotomschnitt ist in Abbildung 13 wiedergegeben. Der Pilz hat zunächst die Rinde bis auf das Holz abgetötet. Bei der höheren Temperatur hat die Abwehrreaktion der Pflanze eingesetzt. Die Wunde ist durch Wundkork verschlossen; das gesunde Gewebe hat Kallus gebildet, der sich über die Wunde schiebt und sie verschließt. Interessant ist, daß hier nur gegen die Wunde, d. h. das vom Pilz abgetötete Rindengewebe, Wundkork gebildet wird, nicht aber gegen das Holz, in dessen Gefäßen sich der Pilz befindet. Von hier aus kann er unter geeigneten Bedingungen in das neu gebildete Gewebe abermals vordringen, ein Vorgang, der im Freiland immer wieder beobachtet wird: äußerlich verheilt erscheinende Wunden brechen wieder auf.

Von den Wundrändern her wird so lange Kallus gebildet, bis die Gewebe zusammenstoßen und miteinander verwachsen. Abbildung 14 zeigt diesen Vorgang sehr deutlich. Bemerkenswert ist, daß in diesem Fall auch zum Holz hin Wundkork gebildet wurde und daß beim Zusammenwachsen der Gewebe im Wundkork Risse entstanden sind, durch die der Pilz die Pflanze vom Holz aus neu infizieren kann.

Nachdem die Wunde durch Wundkork abgeriegelt ist und Kallus sie zu schließen sucht, werden diese beiden Abwehrmechanismen gegenüber *D. populea* durch einen weiteren Vorgang ergänzt, durch die Wundholzbildung. Ein Teil des Kallusgewebes beginnt zu verholzen, während vom Kambium zur Wunde hin Holz entsteht.

Gelingt es dem Pilz, die Pflanze unter für sie ungünstigen Umständen abermals zu infizieren, ohne daß diese ihn bis zum Eintritt für sie günstigerer Bedingungen abzutöten vermag, so versucht sie, den Pilz erneut abzuriegeln. Wiederholt sich diese Auseinandersetzung zwischen Wirt und Erreger meh-

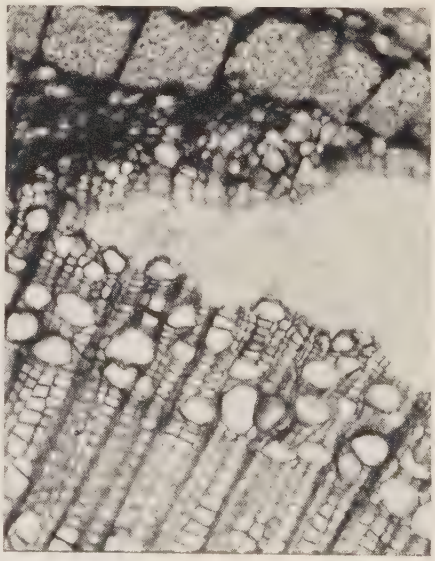


Abb. 13. Abwehrreaktion einer jungen, bei 10 °C infizierten und bei 25 °C weiterkultivierten Pappel (100×)

rere Male, so scheint es zu den krebsartigen Wucherungen zu kommen, wie man sie besonders häufig an Altpappeln beobachten kann.

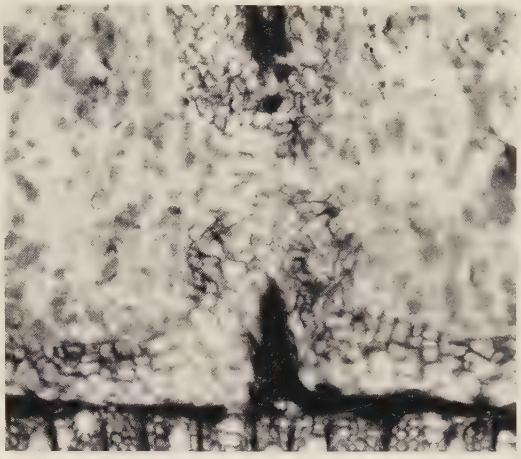


Abb. 14. Verwachsen zweier vom Wundrand ausgehender Kallusgewebe (200×)

2. Sporeninfektionen

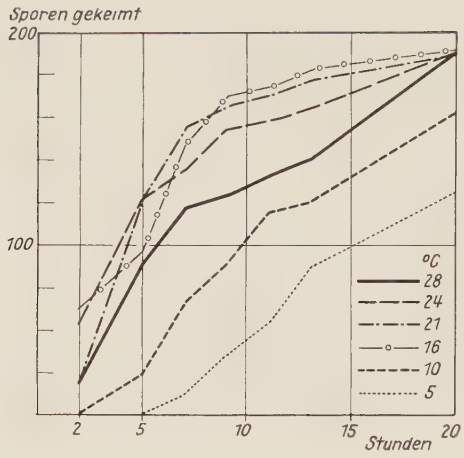
Hedgcock gelang es 1927, Pappeln mit Sporen von *D. populea* über unverletzte Blätter zu infizieren. Schönhar 1952 und Schmidle 1954 konnten in eigenen Versuchen diese Ergebnisse nicht bestätigen, da sie Infektionserfolge nur an vorher verletzten Pflanzen erzielten. Seitdem vermutet man, daß der Pilz nur auf diesem Weg in die Pflanzen einzudringen vermag. Nach meinen Beobachtungen waren aber beispielsweise in einem Pappelquartier (2jährige Pflanzen) trotz 80%igen Befalls keine Wunden festzustellen. Ich bin deshalb der Frage nach weiteren Infektionsmöglichkeiten nachgegangen.

a) Sporenkeimungsversuche

Zunächst habe ich mich bemüht, die Verhältnisse der Sporenkeimung von *D. populea* näher zu klären. Wegen spärlicher Sporulation der Pilzherkünfte in Kultur wurden Sporenkeimteste mit Freilandmaterial nach den bei Blumer und Kundert 1951, Biedermann und Müller 1952 beschriebenen Methoden durchgeführt. Es wurde mit einer Sporendichte von 250 000/ccm gearbeitet.

Im ersten Versuch wurde die für die Keimung günstigste Wasserstoffionenkonzentration mit einer nach McIlvaine (Kordatzki 1938) aus Zitronensäure und Na_2HPO_4 eingestellten Pufferlösung ermittelt. Das Optimum der Sporenkeimung liegt bei einem pH-Wert von 5,2 (Veldeman u. Welwaert 1956). Sie beginnt bei pH 3,2 und endet bei pH 7,2. Bei pH 5,2 konnte gleichzeitig die beste Myzelentwicklung beobachtet werden.

Wichtig für die Infektion ist die Keimungsgeschwindigkeit der Sporen in Abhängigkeit von der Temperatur (Gäumann 1951). Die zu ihrer Erfassung angesetzten Versuche wurden in einem Abstand von zwei Monaten dreimal wiederholt und die errechneten Mittelwerte in Abbildung 15 graphisch dargestellt. Auf der Ordinate sind die gekeimten Sporen, auf der



Abszisse ist die Zeit in Stunden aufgetragen. Die Kurven zeigen eindeutig, daß das Optimum für die Keimungsgeschwindigkeit zwischen 16 °C und 21 °C liegt. Bei 5 °C beginnt die Keimung erst nach 5 Stunden, während sie bei den übrigen Temperaturen schon nach 2 Stunden einsetzt.

Abb. 15. Einfluß der Temperatur auf die Keimungsgeschwindigkeit der Sporen von *D. populea*

b) Infektionsversuche

Im August 1956 trat in einem Pappelquartier bei Bonn, vornehmlich an Pflanzen auf staunassen Stellen, starker Befall durch *Melampsora* auf. Anfang September waren die Pflanzen völlig entblättert. Ihre Triebspitzen waren infolge des vorzeitigen Blattfalls nicht ausgereift und leicht geschrumpft. Mitte Oktober zeigten sich die ersten Erkrankungen durch *D. populea*. Zuerst wurden wiederum Pflanzen der staunassen Lagen, etwas später auch die übrigen Pflanzen befallen, und zwar fast ausschließlich am letztjährigen Trieb über die Lentizellen.

Diese Beobachtung regte zu den folgenden Versuchen an: Um die Lentizellen von 20 einjährigen, kräftigen und gut ausgereiften Pflanzen der Sorte „Robusta" wurden mit einer Rekordspritze, ohne Kanüle, Vaselinringe aufgespritzt. In die Ringe von 10 waagerecht in eine Feuchtkammer gelegten Pflanzen wurde eine Sporensuspension von *D. populea* gebracht und in die Ringe der restlichen 10 Kontrollpflanzen Aqua dest. gefüllt. (Luftfeuchtigkeit 98—100 %.)

24 Stunden nach Versuchsbeginn wurde die Luftfeuchtigkeit 3 Tage lang auf 90 % gesenkt und dann bei 70 % gehalten. Die Wurzeln der offen in der feuchten Kammer liegenden Pflanzen wurden dreimal täglich angefeuchtet. Nach 6 Wochen wurden sie im Freiland eingeschlagen. Der Versuch wurde nach zwei Monaten abgebrochen, ohne daß es zu einer Erkrankung gekommen war.

In einem anschließenden zweiten Versuch wurden 8 sehr schwache, ein Jahr lang im Gewächshaus angezogene Pflanzen, die ihr Triebwachstum abgeschlossen hatten, auf etwa 5 Augen zurückgeschnitten und dadurch zum Neuaustreiben veranlaßt. Nachdem sie eine Trieblänge von etwa 30 bis 40 cm erreicht hatten, wurden die Blätter abgestreift. Davon wurden 4 Pflanzen mit einer Sporensuspension, 4 als Kontrollen mit Regenwasser besprüht. Alle 8 wurden gemeinsam mit 16 weiteren, 5 Monate alten, kräftigen, im Gewächshaus gezogenen und mit einer Sporensuspension besprühten

Pflanzen in die feuchte Kammer gestellt. Von letzteren war die Hälfte ebenfalls künstlich entlaubt. Auch zu dieser Versuchsserie wurden 4 Kontrollpflanzen mit Regenwasser besprüht. (Temperatur und relative Luftfeuchtigkeit für 48 Stunden 21 °C bzw. 98—100 % und anschließend 10 bis 30 °C bzw. 50—70 %). Nach 8 Tagen zeigten sich die ersten dunklen Verfärbungen an den Knospen des alten einjährigen Holzes der zurückgeschnittenen Pflanzen, 6 Tage später verfärbten sich die Lentizellen dunkel und begannen einzusinken. Gleichzeitig traten an den durch das Abstreifen der Blätter entstandenen und dann vernarbten Wunden dunkle Verfärbungen auf. Aus allen Verfärbungen konnte *D. populea* rückisoliert werden. Demnach war der Befall nicht nur, wie erwartet, über die Wunden (Blattnarben), sondern auch über die Lentizellen erfolgt (Abb. 16).

An den 5 Monate alten entlaubten wie auch an allen nicht entlaubten Pflanzen war kein Befall festzustellen.

In den folgenden Versuchen sollte festgestellt werden, ob eine Infektion auch bei unverletzten Pflanzen gelingt. Hierzu wurden 15 in einer Klimakammer bei 16 °C angezogene und 14 Tage vor der Infektion bei 3 °C weiterkultivierte, einjährige Pflanzen mit dünnen, etwas etiolierten, aber verholzten Trieben, deren Wachstum abgeschlossen war, mit einer Sporensuspension besprüht. Temperatur und relative Luftfeuchtigkeit wurden bei der Infektion auf 16 °C bzw. 98—100 % gehalten und nach 20 Stunden auf 12 °C bzw. 70 % gesenkt.

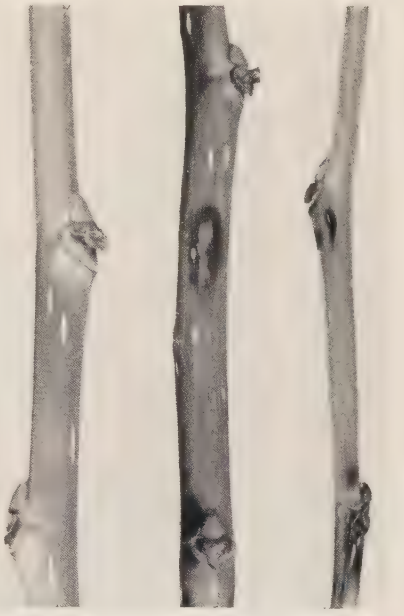


Abb. 16. Befall von *D. populea* über Lentizellen und Blattnarben nach künstlicher Infektion (links Kontrolle, rechts infizierte Triebe)

Nach drei Wochen zeigten sich die ersten dunkel verfärbten Knospen, nach sechs Wochen die ersten Pyknidien des Pilzes. Von 28 Trieben wurden 20 (71,3 %) infiziert. Bei allen erkrankten die Triebspitzen, darüber hinaus 7 Knospen; 9 Kontrollen blieben gesund. Der Pilz kann demnach bei unverletzten Pflanzen über Triebspitzen und Knospen eindringen.

Ein weiterer in gleicher Weise durchgeführter Versuch mit 10 einjährigen, kräftigen und gut verholzten Pflanzen der Sorte „Robusta", deren Triebwachstum abgeschlossen war, ließ nach drei Wochen und zwei Monaten keinen Befall erkennen.

Ebenso erfolglos war die Infektion von 12 im Gewächshaus gezogenen, kräftigen, noch nicht verholzten, 5 Monate alten Pflanzen.

IV. ANTAGONISTISCHES VERHALTEN VON *D. POPULEA*

Bei Kultivierung von *D. populea* auf Biomalzagar zeigte sich eine starke antibiotische Wirkung des Pilzes. Der Versuch lag nahe, die wirksame Substanz zu isolieren.

1. Versuche zur Isolierung eines Welketoxins

Im Kulturfiltrat von *D. populea* warfen junge Pappeltriebe nach 60 Stunden sämtliche Blätter ab, während die Kontrollen in unverbrauchter Nährlösung sie behielten. Die Viskosität der beimpften Nährlösung nahm mit der Dauer der Kultur zu. Das deutete auf Stoffe mit kolloidalem Charakter hin. Sie zu isolieren, wurde das Kulturfiltrat, um die Stoffe aus dem Sol- in den Gelzustand zu überführen, mit 96%igem Alkohol versetzt (500 ccm je Liter). Nach kräftigem Umrühren schwammen sie an der Oberfläche des Kulturfiltrates und konnten abgeschöpft werden. In Aqua dest. aufgelöst ergaben sie eine stark viskose, etwas gelbe, geruchlose Flüssigkeit. Für anschließende Welketeste wurden Pappeltriebe aus bleistiftstarken, 20 cm langen Pappelstecklingen der Sorte „Robusta" im halbschattigen Gewächshaus angezogen. Abbildung 17 läßt den Welkeeffekt in Konzentrationen von 1 : 50 und 1 : 400 nach 12 Stunden bei Labortemperatur erkennen.

Die gleichen Welkeerscheinungen konnten bei unverholzten Apfel-, Pflaumen- und Birnentrieben beobachtet werden, nicht dagegen bei Tomaten- und Kartoffeltrieben. In keinem Fall traten Nekrosen oder Verfärbungen auf. Erhitzen bis zum Sieden beeinträchtigte den Welkeeffekt des Toxins nicht. Pilze und Bakterien wurden von ihm nicht gehemmt. Durch mehrmaliges Lösen und erneutes Ausfällen mit 96%igem Alkohol und Zentri-

Abb. 17. Welkeerscheinungen bei einer Welketoxinkonzentration 1 : 50 (1) und 1 : 400 (4) nach 12 Stunden Einwirkungsdauer (links Kontrolle)

Die Isolierung des Hemmstoffes bis zur Rohphase

1 l Kulturfiltrat (4 Wochen von *D. populea* bewachsene 2%ige Biomalz-Nährlösung)

↓

Sporenkeimtest (200 Sporen nach 20 Stunden ausgezählt) ergab 50%ige Keimung

Kontrolle auf unverbrauchter Biomalznährlösung

Welketoxin mit 96%igem Alkohol ausgefällt (500 ccm/1000 ccm). Welkerscheinungen an Pappel-, Apfel-, Pflaumen- u. Birnentrieben

Sporenkeimtest: keine Hemmwirkung

Rückstand im Vakuum bei 40 °C auf 200 ccm eingeengt

↓

Sporenkeimtest: 20 % gekeimt

↓

Im Vakuum auf 60 ccm weiter eingeengt und mit 150 ccm Äther ausgeschüttelt

ausgeflockte Fraktion
im Vakuum Äther verdampft
Sporenkeimtest: 100 % gekeimt

dunkelbraune flüssige Fraktion
im Vakuum Äther verdampft
Sporenkeimtest: 100 % gekeimt

Ätherfraktion
Äther über Paraffin verdampft. An der Gefäßwand fallen kleine kristallartige Plättchen aus; gelbbraune, schmierige, etwas fettige Masse mit stechendem Geruch, in Aqua dest. schwer löslich

Sporenkeimtest: 0 % gekeimt

fugieren (30 Minuten bei 15 000 Umdr./Min.) konnte es weiter gereinigt, durch Hydrolyse mit Schwefelsäure Glukose abgespalten und letztere papierchromatographisch nachgewiesen werden. Offenbar handelt es sich um ein Polysaccharid.

2. Versuche zur Isolierung eines Hemmstoffes

Da das Welketoxin keinerlei Hemmwirkung gegen Bakterien und Pilze ausübte, konnte sich der Hemmstoff nur im restlichen Kulturfiltrat befinden.

Die Isolierung des Hemmstoffes bis zur Rohphase wurde nach vorstehendem Schema durchgeführt (siehe S. 85). — Aus 1 Liter Kulturfiltrat konnten etwa 0,25 ccm roher Hemmstoff gewonnen werden. Er wurde für die weiteren Untersuchungen in 10 ccm Aqua dest. aufgenommen. Der pH-Wert der Lösung lag bei pH 3,5. Wegen der möglichen Störung der Sporenkeimung wurde er auf 6,6, 5,0 und 4,2 eingestellt. Die Kontrolle in Aqua dest. wurde ebenso behandelt. Dabei zeigte sich, daß bei pH 6,6 die Hemmwirkung vollkommen aufgehoben war, während sie bei pH 5,0 und 4,2 erhalten blieb.

Als Testorganismus diente *Alternaria tenuis* in einer Sporensuspension von 100 000/ccm. Die Hemmwirkung gegen *Bacterium coli* konnte im Plattentest nachgewiesen werden. Sie nimmt mit zunehmender Verdünnung der Konzentration ebenfalls ab.

C. Diskussion

„Ein unmittelbarer Einfluß der Umwelttemperatur auf die Reaktionslage des Wirtes steht dort zu vermuten, wo sich der thermisch gesteuerte Krankheitsverlauf anders gestaltet als die Temperaturkurve des Erregers“ (GÄUMANN 1951, S. 510). Das Temperaturoptimum für das Myzelwachstum von *D. populea* liegt nach Versuchen mit verschiedenen Herkünften des Pilzes in vitro zwischen 22 °C und 25 °C, während Infektionen, wie sie in Versuchen bei konstanten Temperaturen zu erkennen sind, nur unter 12 °C gelingen. Aus dieser Diskrepanz muß also geschlossen werden, daß das Zustandekommen eines stabilen parasitischen Verhältnisses zwischen Wirt und Krankheitserreger eine bestimmte Disposition (Prädisposition) des Wirtes voraussetzt.

Nichts lag näher, als in diesem Zusammenhang zunächst an die nachgewiesenen Abwehrreaktionen zu denken, mit denen die Pflanze sich gegen das Eindringen von *D. populea* zu wehren vermag. Ihr Ausbleiben schafft umgekehrt die Voraussetzung für die Besiedlung durch den Pilz. Es konnte nachgewiesen werden, daß der Wirt bei einer Temperatur von 16 °C aufwärts ein lückenloses Demarkationsgewebe, bestehend aus Wundkork, Kallus und Wundholz, zu bilden und den Pilz völlig abzuriegeln vermag. Das stimmt auch mit den Ergebnissen von HERMANN 1956 und BUTIN 1957 a überein. Sank die Temperatur unter 16 °C, so setzten die Abwehrreaktionen

aus. Der Pilz konnte sich ungehemmt ausbreiten, um so schneller, je tiefer die Temperatur unterhalb 16 °C lag, so daß das Optimum bei 10 °C erreicht wurde. Bei weiterem Absinken der Temperatur nahm seine Ausbreitungsgeschwindigkeit ab, wie es nach der in vitro ermittelten Wachstumskurve in Abhängigkeit von der Temperatur auch nicht anders zu erwarten war. Immerhin konnte ich ebenso wie Butin im Gegensatz zu Hermann auch noch bei 4 °C Infektionen erzielen. Butin führt die negativen Ergebnisse Hermanns auf Überalterung der von ihr verwendeten Pilzstämme zurück.

Neben der Temperatur beeinflussen offensichtlich auch noch andere Faktoren die Abwehrreaktionen des Wirtes, wie die Untersuchungen der beiden genannten Autoren zeigen: Nahm der Wassergehalt der von ihnen untersuchten Pappelstecklinge ab, so ging auch deren Resistenz gegenüber *D. populea* zurück (Schwellenwert: 10 % Wasserverlust bei 17—20 °C).

Auch der Verlust der Assimilationsfläche, sei es durch künstlichen Eingriff im Experiment oder im Freiland durch starken Rostbefall, schafft offenbar die Prädisposition der Pflanze nicht nur für eine erfolgreiche Infektion, sondern auch für eine Ausbreitung des Krankheitserregers in ihr. Vermutlich löst der plötzliche Blattverlust eine Schockwirkung aus, die die Reaktionsfähigkeit der Pflanze einschränkt: Lentizellen, Blattnarben und Wunden werden nicht mehr bzw. nicht schnell genug verschlossen, so daß der Pilz durch sie leicht eindringen kann. Schmidle 1954, Waterman 1955, Schönhar 1955, 1957 und Donaubauer 1957 stellten nach vorangegangenem Rostbefall mit nachfolgendem Blattabwurf verstärkte Schäden durch den Rindenbrand der Pappel fest. Schmidle 1954 sieht deshalb in den Blattnarben wichtige Eintrittspforten des Pilzes in die Pflanze, obwohl seine Versuche, die Pappel über die Blattnarben zu infizieren, negativ verliefen. Schönhar 1957 hingegen konnte einen 30%igen Befall erzielen. In meinen Versuchen zeigte sich, daß frische Blattnarben (Wunden) keineswegs eine bevorzugte Eintrittspforte des Pilzes darstellen, die Pflanzen vielmehr über die Lentizellen befallen werden, ein Ergebnis, das den im Freiland gemachten Beobachtungen entspricht.

Auffallend ist weiterhin, daß nicht alle Pflanzen von dem Pilz befallen werden. Bei kräftigen Pflanzen scheint deshalb die Schockwirkung allein nicht auszureichen; viel größere Bedeutung kommt offenbar dem allgemeinen Zustand der Pflanzen zu, wie er durch die Ernährung und damit verbundene Ausbildung der Rinde sowie durch die Gesamtheit aller Aufwuchsbedingungen herbeigeführt wird. Kräftige, gut ausgereifte Pflanzen werden auch durch Entlaubung nicht so stark geschwächt, daß Infektionen positiv verlaufen.

Besonders deutlich geht dies aus Infektionsversuchen mit unverletzten Pflanzen hervor. Wiederum wurden nur schwache Pflanzen durch Temperaturveränderungen für den Befall prädisponiert, während fünf Monate alte Gewächshauspflanzen nicht befallen wurden.

Bemerkenswert ist, daß die Infektionen unverletzter Pflanzen ausschließlich über die Triebspitzen und vor allem über die Knospen erfolgten, bei künstlich entlaubten Pflanzen dagegen vorwiegend über die Lentizellen. Das mag darauf beruhen, daß die unverletzten Pflanzen, die 14 Tage vor der Infektion bei 3 °C standen, noch Zeit fanden, ihre Lentizellen zu verschließen.

Der Befall über die Blattknospen deckt sich gut mit Beobachtungen BUTINS 1956, der den Pilz auch aus Blattknospen von Freilandmaterial isolieren konnte.

In die Pflanze einmal eingedrungen, breitet sich der Pilz bei Temperaturschwankungen von 3 °C bis 20 °C schneller aus als bei Schwankungen von 3 °C bis 10 °C. Das kann einmal seinen Grund darin haben, daß der Pilz die Temperaturveränderungen noch verhältnismäßig gut, jedenfalls besser als sein Wirt, für sein Wachstum auszunutzen vermag, zum anderen, daß dieser durch größere Temperaturveränderungen geschwächt wird, eine Vermutung, die schon HILF 1955, FRANKEN 1955 und v. EIMERN 1956 geäußert haben.

Die von mir isolierten Herkünfte konnten in schnell-, mittel- und langwüchsige gruppiert werden. Das Optimum der drei von HERMANN 1956 untersuchten Stämme stimmt mit 23 °C gut mit einem Teil der von mir untersuchten Herkünfte überein. REGLER 1958 versucht an Hand seiner Ergebnisse, die er mit zwei Herkünften erhielt, aus der Wachstumsgeschwindigkeit der Pilzstämme auf ihr Optimum zu schließen. Eigene Versuche mit neun Herkünften zeigen, daß es sowohl langsamwüchsige Herkünfte mit hohem Optimum als auch schnellwüchsige Herkünfte mit niederem Optimum gibt, man also aus der Wachstumsgeschwindigkeit nicht auf das Optimum schließen kann. Hingegen können mit Hilfe der Temperaturkurven, ihrer Verfärbung der Pappelrindenextraktnährlösung und ihrer Pathogenität an Pappelstecklingen Herkünfte, die sich morphologisch nicht unterscheiden lassen, physiologisch differenziert werden. Dabei scheint bemerkenswert, daß man auf Grund der Verfärbung nach drei Tagen Rückschlüsse auf die Pathogenität der betreffenden Herkünfte ziehen kann. Der Zusammenhang zwischen Verfärbung der Nährlösung und Pathogenität könnte damit erklärt werden, daß der Pappelrindenextrakt ähnliche Stoffe enthält, wie sie der Pilz zu seiner Ernährung in der Pflanze vorfindet. Diese Substanzen würden dann genauso wie in der Pflanze den Pilz veranlassen, zu ihrer Aufschließung Stoffe auszuscheiden. Damit wäre die in beiden Fällen auftretende Braunfärbung zu erklären.

Der Pilz verwertet in vitro als C-Quelle nur Maltose und in geringerem Maße Stärke. Steigender Maltosegehalt fördert das Myzelwachstum. Die Maltose wird von dem Pilz in Glukose gespalten und nur ein Teil von dieser verbraucht. Daß nur die von der Maltose abgespaltene Glukose verwertet wird, reine Glukose hingegen nicht, mag mit der phos-

phorolytischen Spaltung der Maltose durch den Pilz zusammenhängen. Offenbar wird nur dasjenige Glukose-Molekül verwertet, an dem die Phosphorsäure hängt, also das energiereichere Molekül. Daß nicht sonstige Restprodukte der Maltose das besonders gute Wachstum verursachen, beweist die Entwicklung in Nährlösungen mit 0,5 % Maltose einerseits, 0,5 % Maltose + 0,5 % Glukose bzw. 0,5 % Maltose + 0,5 % Fruktose andererseits; anderenfalls müßte das Wachstum ersterer (0,5 % Maltose) signifikant überlegen sein.

Schwieriger in der Deutung ist der Stärkeabbau durch Diastase und die Verwertung der dabei entstandenen Glukose. Warum der Pilz diese Glukose verwertet und nicht die entstandene Maltose abbaut, ist vorerst unerklärlich. Vielleicht werden Fermente des Pilzes durch die Diastase beeinflußt. Aber alle derartigen Deutungen des Zuckerabbaus durch *D. populea* sind rein spekulativ und bedürfen weiterer Versuche.

Nicht nur Zuckern, sondern auch bestimmten Wirkstoffen kommt offenbar für das Wachstum des Pilzes eine besondere Bedeutung zu. Mit den von mir bisher verwendeten Wirkstoffen konnte allerdings kein besseres oder zumindest gleichwertiges Wachstum gegenüber Biomalz erzielt werden; deshalb muß ein noch nicht erfaßter Wirkstoff im Biomalz angenommen werden, der den Wachstumseffekt dieses Mediums hervorruft. Denn Biomalz, einer Czapek-Dox-Nährlösung zugefügt, bringt in dieser Kombination ein bedeutend besseres Myzelwachstum als reine Biomalznährlösung. Zwischen Mineralstoff- und Wirkstoffeffekt der Nährlösung auf das Pilzwachstum scheint eine enge Beziehung zu bestehen (Schopfer 1949).

Weniger spezifischen Einfluß auf das Pilzwachstum haben die Aminosäuren. Daß ihr Zusatz zu Czapek-Dox-Nährlösung eine geringe Wachstumssteigerung hervorruft, mag daran liegen, daß der Pilz die Aminosäuren nicht nur als N-, sondern auch als C-Quelle auszunutzen vermag.

Die Stoffwechselprodukte des Pilzes wirken nicht nur auf die Pappel, sondern auch auf eine Reihe anderer Organismen toxisch (Braun u. Hubbes 1957). Ein Welketoxin, aus dem Kulturfiltrat von *D. populea* gewonnen, ruft an jungen Pappeltrieben starke Welkeerscheinungen hervor. Hier liegt offenbar ein Stoff mit einem begrenzten Wirkungsspektrum vor, da wohl Pappel-, Apfel-, Pflaumen- und Birnentriebe, nicht aber Tomaten- oder Kartoffeltriebe Welkeerscheinungen zeigen. Wie Regler 1958 erwähnt, sind Verthyllungen durch die Pflanze oder Verstopfungen der Gefäße durch Pilzmyzel (Tracheomykose) bisher nicht in einem solchen Umfang beobachtet worden, daß plötzliches Abwelken vom Rindenbrand befallener Pappeln dadurch genügend erklärt werden könnte. Deshalb liegt die Vermutung nahe, daß das isolierte Welketoxin auch in der Pflanze von dem Pilz gebildet wird. Der stofflichen Zusammensetzung nach scheint es ein Polysaccharid zu sein. Seine Entstehung im Kulturfiltrat könnte sich daraus erklären lassen (Myrbäck 1953), daß bestimmte Phosphorylasen bei konstantem pH und

bestimmtem Zuckergehalt der Lösung nicht mehr analytisch, sondern synthetisch wirken können.

Ein zweiter aus dem Kulturfiltrat isolierter Stoff wirkt auf Pilze und Bakterien hemmend, während der Welkestoff nur höheren Pflanzen gegenüber toxisch wirkt. Die Wirksamkeit dieses Hemmstoffes nimmt mit steigendem pH ab, um schließlich bei pH 6,6 völlig aufgehoben zu werden. Ob es sich hierbei um den von BUTIN erst kürzlich (1958) isolierten, in seiner Wirkung ebenfalls vom pH-Wert abhängigen Hemmstoff handelt, muß vorerst offenbleiben.

Bei seinem Vordringen in die Pflanze tötet der Pilz außer der Rinde das Kambium ab und gelangt in das junge Holz. Hier kann die Wirtspflanze ihn nicht mehr durch ihre Abwehrreaktionen inaktivieren. Umgekehrt kann er von hier aus wieder in das Rindenparenchym vordringen, wenn die Umwelteinflüsse die Abwehrreaktionen des Wirtes unterbinden. Einmal in das Holz vorgedrungen, kann er also jederzeit sein Wachstum wieder aufnehmen, auch wenn er in den äußeren Gewebeteilen völlig abgeriegelt werden konnte. Das Wechselspiel von Infektion und Abwehrreaktion kann zur Entstehung der besonders an älteren Bäumen häufig beobachteten krebsartigen Wucherungen führen, wie sie auch nach Befall durch *Nectria* und *Bacterium rimaefaciens* entstehen. Da auf ihnen häufig die Pyknidien des Erregers ausgebildet werden, stellen sie ein gefährliches Sporenreservoir für Neuinfektionen dar.

Im Frühjahr 1958 konnte an vielen Stellen Deutschlands Wipfeldürre in Altbeständen beobachtet werden. Daß diese Erscheinung nicht nur auf Frostwirkung zurückzuführen ist, erwies sich beim Fällen einiger Bäume: Die Äste waren von Pyknidien von *D. populea* übersät. Solche Bäume bilden naturgemäß eine Gefahr für benachbarte Baumschulquartiere. Im Wesen der Pappelanzucht durch Stecklingsvermehrung liegt es aber auch begründet, daß eine örtliche Häufung gleichaltriger, genetisch einheitlicher krankheitsanfälliger Pflanzen geschaffen wird. Der ganze Bestand kann daher z. B. durch Umwelteinflüsse ungefähr zur gleichen Zeit in den Zustand abnormer Prädisposition gelangen. So kann es zu einer Massenerkrankung kommen, mit einer Steigerung der Keim- und Infektionsdichte. Daraus können verheerende Rindenbrandepidemien erwachsen.

Dieser verhängnisvollen Entwicklung vorzubeugen, muß Aufgabe hygienischer Maßnahmen sein (BRAUN 1952).

Zusammenfassung

Untersuchungen über ernährungsphysiologische Eigenschaften von *D. populea*, das unterschiedliche biologische Verhalten verschiedener Herkünfte, die Reaktionsweise des Wirts und dessen stoffliche Beeinflussung durch die Infektion brachten folgende Ergebnisse:

I. 1. Auf synthetischen Nährböden mit verschiedenen C-Quellen kann *D. populea* nur Maltose und in geringem Maße Stärke verwenden, wobei der Abbau offenbar über phosphorylierte Zucker erfolgt. Wird die Stärke mit Diastase gespalten, so verwertet der Pilz Glukose, während Maltose nicht angegriffen wird.

2. Bei Zugabe von Aminosäuren zur synthetischen Nährlösung ist das Wachstum stets geringer als auf Biomalznährlösung; das gleiche Ergebnis brachte die Verwendung von verschiedenen Wirkstoffen.

3. Am besten gedeiht der Pilz auf Pappelrindenextrakt.

II. Neun Herkünfte von *D. populea* ließen sich nach ihren Temperaturansprüchen, nach der Verfärbung des Pappelrindenextraktes und nach ihrer Pathogenität an Pappelstecklingen klar unterscheiden. Stärkster Verfärbung von Rindenextraktlösungen entsprach höchste Pathogenität.

III. 1. a) Myzelinfektionen gelingen bei schwankenden Temperaturen von 3—30 °C, 3—20 °C, 3—10 °C und unterhalb einer konstanten Temperatur von 12 °C.

b) Abwehrreaktionen vereiteln bei höheren Temperaturen (über 16 °C) Infektionen.

2. a) Das Optimum für die Geschwindigkeit der Sporenkeimung von *D. populea* liegt bei 16—21 °C und pH 5,2.

b) Infektionsversuche an unverletzten einjährigen Pflanzen fielen positiv aus. Wiederholungen an Gewächshauspflanzen sowie an kräftigen einjährigen Freilandpflanzen blieben ohne Erfolg. Schwache Gewächshauspflanzen, deren Blätter kurz vor der Infektion entfernt waren, wurden über die Lentizellen und nur spärlich über die Blattnarben infiziert. Wiederholungen mit 5 Monate alten Gewächshauspflanzen verliefen negativ.

IV. Aus dem Kulturfiltrat von *D. populea* konnte ein Welketoxin isoliert werden, aus dem durch Hydrolyse Glukose abgespalten und papierchromatographisch nachgewiesen wurde.

Es wurde ein Hemmstoff in der Rohphase isoliert.

Summary

Investigations on the physiology of nutrition of *D. populea*, the different biological reaction of strains of different origin, the mode of reaction of the host and its material changes after infection gave the following results.

I. 1. On synthetic nutrient media with different sources of carbon *D. populea* can utilize only maltose and to a limited extent also starch, the break-

down occurring evidently through phosphorylated sugars. If the starch is broken down by diastase the fungus can then utilize glucose, whereas maltose is not affected.

2. On the addition of aminoacids to the synthetic nutrient solution the growth is invariably less than on a biomalt nutrient solution. The same result was observed when various other active substances were employed.

3. The fungus thrives best on an extract of poplar bark.

II. Nine cultures of *D. populea* of different origin showed clear differences in their temperature reactions, coloration of poplar bark extract and pathogenicity on test cuttings of poplar. The deepest coloration corresponded to the greatest pathogenicity.

III. 1. a) Mycelial infections are successful at varying temperatures of 3—30 °C, 3—20 °C and 3—10 °C and at constant temperatures under 12 °C.

b) Defence reactions prevent infection at higher temperatures (over 16 °C).

2. a) The optimum temperature for early spore germination of *D. populea* is 16—20 °C and the optimum pH is 5.2.

b) Infection experiments on unwounded one-year old plants (grown at 16 °C and placed at 3 °C for 14 days before infection) gave positive results. When the experiments were repeated on greenhouse plants and on vigorous one-year old plants grown in the open the results were negative. Weak greenhouse plants, from which the leaves had been removed shortly before infection, were infected through the lenticels and only slightly through the wound scars. Repetition with five-months old greenhouse plants gave negative results.

IV. A wilt toxin could be isolated from the culture filtrate of *D. populea* and by hydrolysis of the toxin glucose could be produced and demonstrated by paper chromatography. In the fresh state an inhibitory substance was isolated.

Literaturverzeichnis

BABEL, A., 1931: Pappelsterben. Mitt. Dtsch. Dendrol. Ges. **48**, 415—416.

BAVENDAMM, W., 1936: Der Rindenbrand der Pappeln. Tharandter Forstl. Jb. **87**, 177—179.

BIEDERMANN, W., und E. MÜLLER, 1952: Die Inaktivierung des gelösten Kupfers (II) in Fungiziden. Phytopath. Z. **18**, 307—338.

BLUMER, S., und J. KUNDERT, 1951: Methoden der biologischen Laborprüfung von Kupferpräparaten. Phytopath. Z. **17**, 161—199.

Braun, H., 1952: Die Verhütung des Auftretens von Pflanzenkrankheiten und -schädlingen (Hygiene). Hdb. Pflanzenkrankh. **6**, 26—143. Verlag Paul Parey, Berlin u. Hamburg.

— —, und M. Hubbes, 1957: Antagonismus und Sporeninfektion bei *Dothichiza populea*. Naturwissenschaften **44**, 333.

Breny, 1946: *Dothichiza populea*. Bull. Soc. for. Belg. **53**, 284—288. (Zit. n. Rev. appl. Mycol. **25**, 586.)

Butin, H., 1955: Über den Einfluß des Wassergehalts der Pappel auf ihre Resistenz gegenüber *Cytospora chrysosperma* (Pers.) Fr. Phytopath. Z. **24**, 245—264.

— —, 1956: Beobachtungen über das vorjährige Auftreten der *Dothichiza*-Krankheit der Pappel. Nachr.Bl. dtsch. Pfl.sch.dienst (Braunschweig) **8**, 55—58.

— —, 1957 a: Untersuchungen über Resistenz und Krankheitsanfälligkeit der Pappel gegenüber *Dothichiza populea* Sacc. et Briard. Phytopath. Z. **28**, 353—374.

— —, 1957 b: Über die Hauptfruchtform von *Dothichiza populea* Sacc. et Briard Nachr. Bl. dtsch. Pfl.sch.dienst (Braunschweig) **9**, 69—71.

— —, 1958: Untersuchungen über ein Toxin in Kulturfiltraten von *Dothichiza populea* Sacc. et Briard. Phytopath. Z. **33**, 135—146.

Ciferri, R., 1951: Malattie critogamiche del Pioppo in Italia. Atti. Ist. Bot. Univ. Pavia, Ser. **8**, 205—229. (Zit. n. Rev. appl. Mycol. **30**, 636.)

Cramer, F., 1953: Papierchromatographie. 2. Aufl. Chemie GMBH, Weinheim (Bergstr.).

Davis, S. H., 1942: Poplar canker. On the susceptibility of various poplar species. Bull. Morris Arbor. Univ. Pa. **3**, 28. (Zit. n. Rev. appl. Mycol. **30**, 636.)

Delacroix, C., 1903: Sur le parasitisme de *Dothichiza populea* Sacc. et Briard sur diverses espèces de Peupliers. Bull. Soc. Mycol. France. (Zit. n. Van Vloten 1958.)

— —, 1906: Sur une maladie du Peuplier de la Caroline. Bull. Soc. Mycol. France **4**, 239—252. (Zit. n. Van Vloten 1938.)

Detmers, F., 1923: *Dothichiza* canker on norway Poplar. Phytopathology **13**, 245—247.

Donaubauer, E., 1957: Zur Kenntnis von *Chondroplea populea* Sacc./Kleb. Forstliche Bundesanstalt Wien **XIII.**

Dufrénoy, J., 1930: Les maladies du Peuplier. Compte Rendu, 19. Congrès annuel de l'Arbre et de l'Eau. (Zit. n. Richter 1933.)

Eichbaum, K., 1955: Mündliche Mitteilung.

Eimern, I. v., 1956: Die Witterung im Winter 1954/55 und im Frühjahr 1955 und ihre mögliche Bedeutung für den Rindentod der Pappel. Forstarchiv **27**, 30—34.

Franken, E., 1955: Witterungsverlauf im Frühjahr 1955 und Pilzkrankheiten der Pappeln. Die Holzzucht **9**, 30.

Fuckel, L., 1869: *Symbolae mycologicae*. Beitr. z. Kenntnis d. Rhein. Pilze. Jb. Nassau. Verein f. Naturkde., **193.**

Gerhard, 1953: Zum Pappelrindentod. Beobachtungen in Schleswig-Holstein. Allg. Forstz. **31/32**, 354—355.

Goidanich, G., 1940: La Necrosi Corticale del Pioppo causato da *Chondroplea populea* (Sacc. et Briard). Kleb. Riv. Cellulosa **XVIII**, 5, 1—29. (Zit. n. Rev. appl. Mycol. **26**, 431.)

Gäumann, E., 1951: Pflanzliche Infektionslehre. Birkhäuser, Basel.

Hedgcock, G. G., 1927: *Dothichiza populea* and its mode of the infection. Phytopathology **17**, 545—547.

HEDGCOCK, G. G., and N. R. HUNT, 1916: *Dothichiza populea* in the United States. Mycologia **8**, 300—308.

HERMANN, G., 1956: Beiträge zur Physiologie von *Dothichiza populea* Sacc. et Briard und *Cytospora chrysosperma* (Pers.) Fr. im Hinblick auf deren parasitisches Verhalten. Dissertation, Göttingen.

HERRMANN, J., und J. RATHS, 1956: Zur direkten quantitativen papierchromatographischen Analyse von biologischen Flüssigkeiten (I). Pharmazie **11**, 582—591.

HILF, H. H., 1955: Zum Rindentod der Pappel in Norddeutschland. Die Holzzucht **9**, 29—30.

JANKE, A., 1946: Arbeitsmethoden der Mikrobiologie. Theodor Steinkopff, Dresden u. Leipzig.

KERN, H., 1957: Untersuchungen über die Umgrenzung der Arten in der Ascomycetengattung *Leucostoma*. Phytopath. Z. **30**, 149—180.

KISPATIC, J., 1950: Prileg ponsvanju parasitske mikroflore Hrovatske. Ser. **II B**, 2—3, 44—50. (Zit. n. Rev. appl. Mycol. **30**, 507.)

KLAUS, H., 1941: Untersuchungen über *Alternaria solani* Jones et Grout, insbesondere seine Pathogenität an Kartoffelknollen in Abhängigkeit von Außenfaktoren. Phytopath. Z. **13**, 126—195.

KLEBAHN, H., 1933: Über Bau und Konidienbildung bei einigen stromatischen Sphaeropsideen. Phytopath. Z. **6**, 91—295.

— —, 1937: Untersuchungen über *Chondroplea populea* (*Dothichiza populea* Sacc. et Briard). Z. Pflanzenkrkht. **47**, 38—52.

KORDATZKI, W., 1938: Taschenbuch der praktischen pH-Messung. Rudolph Müller & Steinicke, München.

KOTTHOFF, P., 1931: Der Rindenbrand der Pappeln. Landw. Ztg. f. Westfalen u. Lippe **88**, 497—498.

KRIEGER, 1893: Fungi Saxonici Exsiccati No. 1100. (Zit. n. RICHTER 1933.)

KÜSTER, E., 1925: Pathologische Pflanzenanatomie. Gustav Fischer, Jena.

LEHNARTZ, E., 1952: Chemische Physiologie. Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg.

LOEFFLER, W., 1957: Untersuchungen über die Ascomyceten-Gattung *Dothidea* Fr. Phytopath. Z. **30**, 349—386.

MERCK, A. G., 1955: Papierchromatographie. Darmstadt.

MEYERHOF, O., 1948: New Investigations on Enzymatic Glycolysis and Phosphorylation. Experientia **4**, 169—176.

MOSS, E. H., 1922: Observations on two Poplar cankers in Ontario. Phytopathology **12**, 425—427.

MÜLLER, R., 1952: Rindentod an Jungpappeln im Frühjahr 1952. Allg. Forstz. **7**, 294—295.

MYRBÄCK, K., 1953: Enzymatische Katalase. Walter de Gruyter, Berlin.

NATHER, H., 1954: Zum Massenauftreten von Rindentod an Pappeljungkulturen im Jahre 1953. Allg. Forstz. **65**, 9—10.

NIETHAMMER, A., und S. UNGERER, 1951: Zur Systematik der Pilzgruppe *Penicillium* Link. Arch. Mikrobiol. **16**, 303—318.

OUDEMANS, C. A., 1889: Contributions à la Flore mycologique des Pays Bas XIII. Ned. Kruidk. Arch. ser. **3**, 5, 3, 42.

Ow, L., 1953: Zum Pappelrindentod. Allg. Forstz. **8**, 330.

Patermann, Fa.: Schriftliche Mitteilung.

Quairiere, C. J., 1931: A propos d'une maladie des jeunes plantes de Peuplier du Canada. Bull. Soc. Centr. Forest. Belgique **38**, 391—397. (Zit. n. Richter 1933.)

Regler, W., 1958: Beiträge zur Biologie des Rindentodes (*Dothichiza populea* Sacc. et Briard) an Pappeln. Forst u. Jagd, Sonderbeilage **I**, 1—39.

Richter, H., 1933: Krebs und Rindenbrand der Pappel. Mitt. Dtsch. Dendrol. Ges. **45**, 262—267.

Rippel-Baldes, A., 1955: Grundriß der Mikrobiologie. Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg.

Saccardo, P. A., 1884: Sylloge Fungorum. Vol. III, 672, Patavia

Savulescu, T., 1930: L'Etat phytosanitaire en Roumanie au cours de l'année 1928—1929. Ann. Inst. Récherches Agron. de Roumanie **1**, 214—266. (Zit. n. Richter 1933.)

Schmidle, A., 1954: Zur Kenntnis der Biologie und der Pathogenität von *Dothichiza populea* Sacc. et Briard, dem Erreger eines Rindenbrandes der Pappel. Phytopath. Z. **21**, 189—209.

Schönhar, S., 1952: Untersuchungen über den Erreger des Pappelrindentodes. Allg. Forstz. **7**, 509—512.

— —, 1953: Untersuchungen über die Biologie von *Dothichiza populea* (Erreger des Pappelrindentodes). Forstwissenschaftl. Cbl. **72**, 358—368.

— —, 1955: Beiträge zur Biologie von *Dothichiza populea* (Erreger des Pappelrindentodes). Allg. Forstz. **10**, 461—464.

— —, 1957: Ein Beitrag zur Frage der Anfälligkeit verschiedener Pappelarten und Pappelsorten gegen *Dothichiza populea*. Mitt. f. Forstl. Standortsk. u. Forstpfl.züchtung **6**, 59—64.

— —, 1958: Untersuchungen über die Anfälligkeit verschiedener Pappelarten und Pappelsorten gegen den Erreger des Pappelrindentodes. Die Holzzucht **12**, 12.

Schopfer, W. H., 1949: Plant and Vitamins. Waltham, Mass., USA.

— —, und S. Blumer, 1938: Untersuchungen über die Biologie von *Ustilago violacea* (Pers.) Fuck. Arch. Mikrobiol. **9**, 305—367.

Schwinn, F., 1959: Untersuchungen zur Systematik der Gattung *Phytophthora*. Arch. Mikrobiol. (im Druck).

Snedecor, G. W., 1956: Statistical methods. Iowa State Cell. Press.

Stalder, L., 1954: Untersuchungen über die Graufäule (*Botrytis cinerea*) an Trauben. Phytopath. Z. **22**, 345—380.

Stange, L., 1955: Kohlenhydrate, 54—82. In H. F. Linskens Papierchromatographie in der Botanik. Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg.

Ter Pelwijk, A. J., en G. Brink, 1946: Verslag van het onderzoek 1943—1945 en 1946 naar den Populierenkanker. Meded. Ned. Heidemaatsch. **2**, 1—21.

Van Vloten, H., 1938: Mededeeling 80. Het onderzoek naar de vatbaarheid van populieren voor aantasting door *Dothichiza populea* Sacc. et Briard. Overdruk uit het Tijdschrift d. Nederl. Heidemaatsch., 1—18.

— —, 1938: De ziekte van populieren veroorzaakt door *Dothichiza populea* Sacc. et Briard. Overdruk uit het tiende jaarbook d. Nederl. Dendrolog. Ver., 72—75.

Veldeman, R., en Welwaert, 1956: Studie van *Dothichiza populea.* Achtte Jaarl. Symposium over Phytopharmacie. Gent.

Vogel, H., 1951: Die Antibiotica. Hans Carl, Nürnberg.

Voglino, P., 1909: I parassiti delle piante osservati nelle provincia di Torino e regioni vicine nel 1909. Ann. R. Acad. Agr. Torino **52**, 277—306.

— —, 1910: I nemici del Pioppo canadense di Santena. Nemici vegetali. Ann. R. Acad. Agr. Torino **53**, 325—377.

Waterman, A., and K. Aldrich, 1955: Additional information on the surface sterilisation of Poplar cuttings. Plant. Dis. Reptr. **38**, 96—100.

Weber, E., 1956: Grundriß der biologischen Statistik. Gustav Fischer, Jena.

Wettstein, W. v., 1943: Der Rindenbrand (*Dothichiza populea*). In: Die Vermehrung und Kultur der Pappel.

Zycha, H., 1955: Die Pappel-*Dothichiza*-Kalamität. Allg. Forstz. **10**, 459—461.

Kurze Mitteilungen

Über die Verbreitung der Tabakrippenbräunestämme des Y-Virus der Kartoffel (*Marmor upsilon* Holmes var. *costaenecans* Klinkowski u. Schmelzer) in Deutschland und anderen Ländern

Von

H. Ross

Seit 1955 hat in Mitteleuropa das Y-Virus eine ungewöhnliche Ausbreitung erfahren (Rudorf und Ross 1958). Wesentlich beteiligt hieran ist eine bis 1935 in Europa unbekannte Stammgruppe des Y-Virus, die der Tabakrippenbräunestämme (RBV).

Diese Stämme unterscheiden sich von den gewöhnlichen Y-Stämmen durch Vorhandensein bzw. Fehlen gewisser antigener Gruppen (Bartels 1958) und durch die Symptombilder auf zahlreichen Wirten. Die Inaktivierungstemperatur (58—62 °C) ist nicht wesentlich von der der gewöhnlichen Y-Stämme verschieden (Darby, Larson u. Walker 1951, Köhler 1955, Klinkowski u. Schmelzer 1957). Der Verdünnungsendpunkt lag in den Untersuchungen von Darby et al. (1951) mit 1 : 750 000 höher als bei 17 anderen damit verglichenen Stämmen. Die Tabakrippenbräunestämme zeigen gegenüber gewöhnlichen Y-Stämmen keine Prämunität (Bawden u. Kassanis 1951, Munro 1955, Klinkowski u. Schmelzer 1957, Silberschmidt 1958).

Von den Symptomunterschieden interessieren besonders die auf der Kartoffel und auf dem hier als Differenzialwirt verwendeten Samsuntabak. Das Rippenbräunevirus erzeugt auf den Kartoffelsorten dieselbe Skala unterschiedlicher Symptome wie die gewöhnlichen Y-Stämme. Je nachdem, ob es sich um eine Primär- oder Sekundärerkrankung handelt und je nach der Sorte reichen sie von Unsichtbarkeit (Latenz) über Mosaik und schwarzen Stricheln auf der Blattunterseite bis zu Blattfall und sehr frühem Absterben. Die Symptome, die eine Sorte mit dem RBV zeigt, sind jedoch meistens schwächer als die von gewöhnlichen Y-Stämmen herrührenden, und sie neigen vor allem in der Sekundärphase zur Latenz. Eine Beurteilung nach den Symptomen der Feldstaude, ob das RBV vorliegt oder der gewöhnliche Y-Stamm, ist oft unmöglich.

Samsuntabak läßt sich dagegen sehr gut zur Differenzierung der beiden Stammgruppen verwenden. Zunächst erscheinen allerdings mit beiden Stammgruppen die gleichen Symptome in Gestalt einer Adernaufhellung und einer leichten Biegung der Blätter nach unten. 8 bis 15 Tage später jedoch zeigen

die mit RBV eingeriebenen Pflanzen außerdem regelmäßig auf den Blättern verstreute weißlich- oder bräunlich-nekrotische Flecke. Beiderseits der Adern verlaufen ebensolche Bänder. An den untersten Blättern bräunt sich — manchmal erst nach Wochen — die Hauptader. Schließlich sterben die untersten Blätter ab und hängen am Stamm herab. Durch die Symptome auf Tabak konnte bisher jedes Y-Isolat von Feldpflanzen einwandfrei einer der beiden Y-Gruppen zugeordnet werden. Übergangsformen wurden nicht angetroffen.

In folgendem sollen einige Beobachtungen mitgeteilt werden, die mit Ursache und Entwicklung der Epiphytotie zusammenhängen. Sie betreffen die derzeitige geographische Verbreitung des RBV, die Häufigkeit des Vorkommens in Deutschland und einigen angrenzenden Ländern und die Frage, ob und in welchem Ausmaß neben dem RBV auch die gewöhnlichen Y-Stämme an der Epiphytotie beteiligt sind.

Das Rippenbräunevirus wurde zuerst im Jahre 1935 entdeckt (Smith u. Dennis 1940). Das Isolat wurde von White Burley-Tabak genommen, der in der Nähe von Kartoffeln, aber nicht in Berührung damit wuchs.

Erst im Jahre 1950 wurde wieder über das Virus berichtet. Es war in Bulgarien auf Tabak gefunden worden (Kovachewsky 1950). Im selben Jahre wurde es in England aus südamerikanischen Kartoffelproben isoliert („veinal necrosis", Bawden und Kassanis 1951). Ebenfalls in einer südamerikanischen Wildkartoffel wurde es 1952 bzw. 1953 von Munro (1955) in Cambridge beobachtet. In Deutschland machten Bode und Völk (1957) den ersten Fund im Jahre 1951 in einer Kartoffelprobe aus dem Emsland. In Mitteldeutschland wurde es 1952 zum erstenmal beobachtet, und zwar auf Tabak (Klinkowski und Schmelzer 1957). Im selben Jahr wurde es von Köhler in einer Tabakprobe aus Ahlhorn (Oldenburg) diagnostiziert (Köhler 1955). In der Schweiz war das Virus wohl zuerst 1953 an Tabak und Kartoffeln aufgetaucht (Bovey 1955, Aubert 1957). Inzwischen wurde festgestellt, daß diese Stammgruppe auch in Südamerika auf Tabak und *Solanum* spec. vorkommt, hier wahrscheinlich schon seit sehr viel längerer Zeit (Nobrega und Silberschmidt 1944, Orlando und Silberschmidt 1945, Silberschmidt, Rostom und Ulsom 1954).

Um zunächst über das Vorkommen des RBV außerhalb der Bundesrepublik Klarheit zu gewinnen, wurden Proben vermutlich Y-kranker Stauden selbst gesammelt bzw. von Kollegen erbeten[1]). Die Testungen auf Samsuntabak hatten das Ergebnis, daß nunmehr auch für Belgien, Holland und Finnland das RBV nachgewiesen werden konnte (Tab. 1). In den nur wenigen Proben aus Frankreich, Mexiko, Bolivien und Argentinien wurde das RBV nicht gefunden, sondern nur gewöhnliche Y-Stämme.

Wenn im folgenden Mitteilungen über die Häufigkeit des Auftretens des Y-Virus gemacht werden, so ist uns klar, daß exakte Feststellungen sehr schwer zu erlangen sind. Die von uns gemachten Beobachtungen können nur ein ungefähres Bild geben. Sie sollten aber dennoch mitgeteilt werden, um mit den zu erwartenden Ermittlungen anderer Autoren die Ent-

[1]) Auch an dieser Stelle möchte ich den Kollegen, die mich bei den Untersuchungen unterstützten, meinen Dank aussprechen.

wicklung der Epiphytotie aufklären zu helfen. Die Beobachtungen beziehen sich hauptsächlich auf die Verbreitung des Y-Virus in seiner Gesamtheit — d. h. ohne Differenzierung der Stämme — und hauptsächlich auf Beurteilung der Symptome an den Kartoffelstauden selbst. Nur in einigen Fällen wurden Abreibungen auf Samsuntabak gemacht, um zwischen den gewöhnlichen Y-Stämmen und dem RBV zu unterscheiden.

Das Y-Virus hat heute seine Hauptverbreitung unstreitig in Nord- und Westdeutschland. Die Zahl der hier angetroffenen Y-kranken Stauden übersteigt nicht nur in den Gebieten des Konsumanbaus, sondern auch in den ausgesprochenen Saatbaugebieten die der an Blattroll- oder A-Virus erkrankten bedeutend und ist etwa mit der Zahl der X-kranken gleichzusetzen. Innerhalb der Bundesrepublik ist das Virus weniger verbreitet in den Saatbaugebieten Schleswig-Holsteins, Ostfrieslands und einiger Gegenden Süddeutschlands. In Schleswig-Holstein nimmt es in nördlicher Richtung ab. Über den Anteil des RBV bzw. der gewöhnlichen Y-Stämme orientiert Tabelle 2.

Was Mitteldeutschland angeht, so war in der Magdeburger Börde und im Gebiet von Ludwigslust eine sehr starke Verseuchung mit Y-Virus festzustellen, an der das RBV vielleicht nicht den gleichen hohen Anteil hat wie in West- und Norddeutschland (Tab. 1).

Im nördlichen und mittleren Teil Hollands scheinen die Y-Infektionen leicht angestiegen zu sein. Dennoch wurden dort aber nicht mehr Y-Infektionen beobachtet als in den heute noch besten deutschen Saatbaugebieten. Der Anteil an RBV ist sehr gering. Latent mit Y befallene Sorten fehlen in Holland ganz.

Aus Belgien liegen keine eigenen Feldbeobachtungen, sondern nur Ergebnisse weniger Abreibungen aus einer Versuchsstation vor. Dasselbe gilt für Finnland. In Polen besitzt eine mit dem RBV dort sehr stark verseuchte Sorte ein ziemlich großes Anbaugebiet.

Tabelle 1

Vorkommen gewöhnlicher und RBV-Stämme des Y-Virus in Proben aus Ländern außerhalb der Bundesrepublik

Herkunft	Zeitpunkt der Prüfung	RBV[1])	Y[1])
Belgien	10. 8. 57	1	5
	26. 6. 58	1	1
Bretagne, Dept. Finistère	15. 8. 57	0	5
Cambridge		1[2])	1[2])
Holland	26. 6. 58	1	13
Mitteldeutschland[3])	11. 8. 58	3	6
Finnland	17. 7. 58	2	3
Mexiko		0	1[2])
Bolivien		0	1[2])
Argentinien		0	1[2])

[1]) RBV = Tabakrippenbräunestämme des Y-Virus, Y = gewöhnliche Y-Stämme.
[2]) Analyse von Stauden, die 1958 aus übersandten Knollen erwuchsen.
[3]) Umgebung von Ludwigslust.

Obwohl das Virus zuerst in England gefunden wurde, scheint seine Verbreitung dort nicht die starken Ausmaße angenommen zu haben wie in Deutschland. In Schottland ist es kaum verbreitet. Das RBV war allerdings in eine latent reagierende schottische Sorte hineingelangt. Inzwischen soll es aber gelungen sein, das Saatgut davon wieder zu befreien.

In der Bretagne wurde bei einer Reise durch das Saatbaugebiet des Départments Finistère festgestellt, daß das Y-Virus, wenn es dort überhaupt vorkommt, dann jedenfalls nur eine sehr untergeordnete Verbreitung besitzt. Proben von selten gefundenen Y-kranken Stauden zeigten nur den gewöhnlichen Y-Stamm.

In der Schweiz hat sich das RBV von 1953 bis 1956 besonders in den Tabakkulturen des Tessin, Broye, Wallis und Waadt recht stark ausgebreitet (Bovey 1955, Aubert 1957). Nach brieflichen Mitteilungen von Münster hat es jetzt in diesen Gebieten auch auf Kartoffelbeständen zugenommen.

Es hat uns nun weiter interessiert, in welchem zahlenmäßigen Verhältnis die gewöhnlichen Y-Stämme, verglichen mit den RBV-Stämmen, im Verlauf der Entwicklung der Epiphytotie angetroffen wurden. Die Fluktuation wurde über 5 Jahre an verschiedenen Orten Deutschlands beobachtet (Tab. 2). Latent verseuchte Sorten wurden von der Analyse ausgeschlossen, ebenso Stauden, die nur wenige Meter von latent verseuchten Infektoren entfernt standen. Die latent verseuchten Sorten sind fast 100 %ig mit RBV infiziert. Nur das RBV ist in ihnen symptomlos, nicht aber die gewöhnlichen Y-Stämme. Stauden mit den stärkeren Symptomen des gewöhnlichen Y werden bei der Saatguterzeugung regelmäßig herausselektioniert. Hätten sich die Teste auch auf diese Sorten erstreckt, so wäre daher ein falsches Bild entstanden. Das in der Tabelle angegebene Jahr ist das Jahr der Infektion, nicht

Tabelle 2

Infektionen mit gewöhnlichen und RBV-Stämmen des Y-Virus an verschiedenen Stellen der Bundesrepublik in den Jahren 1953 bis 1957 (Näheres s. Text)

	Jahr der Infektion									
	1953		1954		1955		1956		1957	
	Y-Gruppe									
	RBV	Y	RBV	Y	RBV	Y	RBV	Y	RBV	Y
Weidefeld b. Kappeln u. Umgebung	—	—	0	4	2	13	6	0	11	9
Scharnhorst b. Neustadt (Hannover)	0	1	1	0	1	0	8	5	35	19
Voldagsen b. Hameln	0	62	0	96	6	35	2	14	—	—
Vogelsang b. Köln	—	—	—	—	—	—	19	8	22	11
Rosenhof b. Heidelberg	—	—	—	—	—	—	1	1	9	22
Bayern, verstreut	—	—	—	—	1	14	—	—	6	19
Summe	0	63	1	100	10	62	36	23	83	80
Verhältnis			1 : 100		1 : 6,2		1 : 0,8		1 : 1	

das des Nachbaues. Dabei wurde der 15. Juli als Grenze gesetzt. Abreibungsergebnisse bis zu diesem Datum wurden dem Jahr davor als Infektionsjahr zugezählt; solche nach dem 15. Juli wurden dem laufenden Jahre zugezählt, sofern sicher war, daß sie Primärinfektionen darstellten. Es zeigt sich, daß die erste RBV-Infektion an den beiden in Tabelle 2 aufgeführten Orten im Jahre 1954 aufgefunden wurde, und zwar nur bei 1 % der untersuchten Y-kranken Stauden. Schon im Jahre 1955 verhielt sich RBV : Y wie 1 : 6,2, 1956 wie 1 : 0,8 und 1957 wie 1 : 1.

Für eine ins einzelne gehende Auswertung sind die Zahlen zu spärlich. Wohl kann aber die Frage angegangen werden, ob die Epiphytotie durch die RBV-Stämme allein verursacht ist.

Die Zahl der 1958 im Felde, sei es in Saatgut- oder Konsumbeständen, am Y-Virus in seiner Gesamtheit erkrankten Stauden ist in Nord- und Westdeutschland gegenüber 1953, als das RBV praktisch noch nicht aufgetreten war, schätzungsweise auf mehr als das 15-fache gestiegen. Dabei sind die ± latent mit RBV befallenen Sorten nicht mitgerechnet.

In unseren Testungen verhielten sich nun aber die angetroffenen Isolate des gewöhnlichen Y zu denen des RBV nicht wie 1 : 15, sondern wie 1 : 1,2. Selbst wenn die 15fache Steigerung der Y-Infektionen seit 1953 etwas zu hoch gegriffen sein sollte, und selbst wenn die in unseren Beobachtungen ermittelten Zahlen für ganz Deutschland nicht repräsentativ sind, so ist doch unverkennbar, daß die gewöhnlichen Y-Stämme an der Epiphytotie einen überraschend hohen Anteil haben. Das ist um so bemerkenswerter, als in größerem Rahmen gesehen den weit überwiegenden Hauptteil der Infektionsquellen im Lande latent befallene Sorten darstellen, die wiederum fast ausschließlich das RBV enthalten. Sogar in einem Abbauversuch in Köln, der in jeder dritten Reihe eine fast 100 % mit RBV besetzte Sorte enthielt, wurde in 58 Proben das RBV gefunden und in 16 Fällen gewöhnliche Y-Stämme.

Für die Beurteilung der Zusammenhänge ist es weiter bemerkenswert, daß während dieses Jahres (1958) die Ausbreitung des Y-Virus stark zurückgegangen ist. Wenn die gewöhnlichen Y-Stämme, in welchem exakten Ausmaß auch immer, an dieser Epiphytotie beteiligt sind, so muß eine der Ursachen der Epiphytotie in günstigen Übertragungsbedingungen liegen, die für b e i d e Stammgruppen Geltung haben. Auf Zusammenhänge mit der Entwicklung der Aphidenpopulation weist auch der starke Anstieg der 1957 besonders bei Frühsorten erfolgten Infektionen hin. Während 1957 die Aphiden schon sehr früh eine starke Vermehrung erfuhren, stieg 1958 die Populationskurve erst sehr viel später an und hatte ein niedriges Maximum. Auch die Jahre 1954, 1955 und 1956 waren der Aphidenvermehrung nicht ungünstig. Als ein wesentlicher Faktor für die Epiphytotie des Y-Virus in seiner Gesamtheit haben also die günstigen Bedingungen für die Vektorübertragung zu gelten. Die besondere Note hat die Y-Epiphytotie natürlich durch das RBV erhalten. Ob diese Stammgruppe neu eingeschleppt worden ist, kann infolge der schwierigen Erkennbarkeit vereinzelter Vorkommen nicht entschieden werden. Wesentlich für die Ausbreitung war, daß dem RBV der Einbruch in Sorten mit größerer Verbreitung gelang, in denen es latent war. Damit wurden

in kurzer Zeit die Infektionsquellen des RBV über das ganze Gebiet verstreut, und die in den genannten Jahren früh auftretenden Blattläuse fanden die beste Ausgangslage für die Massenverbreitung.

Die Beobachtungen über das epiphytotische Verhalten des Y-Virus werden fortgesetzt.

Summary

Virus Y infected potatoes from a number of countries (table 1) and from Germany (table 2) were tested for the special strain they contained. In Germany in 1956 and 1957 the proportion between the common strains of Y and the veinal necrosis strains (= Tabakrippenbräunestämme, RBV) was about 1 : 1. Thus, the common strains as well as the veinal necrosis strains participate in the high infection rate of virus Y during the last years.

Literaturverzeichnis

Aubert, O., 1957: La nécrose des nervures, maladie à virus du tabac. Rev. romande Agric. Arboric. **13**, 61—63.

Bartels, R., 1958: Serologische Differenzierungsversuche mit Stämmen des Kartoffel-Y-Virus. Proc. Third Conf. Pot. Vir. Dis., Wageningen-Lisse 1957, 13—19.

Bawden, F. C., and B. Kassanis, 1951: Serologically related strains of potato virus Y that are not mutually antagonistic in plants. Ann. Appl. Biol. **38**, 402—410.

Bode, O., und J. Völk, 1957: Beobachtungen über einen neuen Stamm des Kartoffel-Y-Virus. Kartoffelbau **8**, 140.

Bovey, R., 1955: Note sur un virus nécrotique du tabac, observé en Suisse en 1954 et 1955. C. R. 1er Congrès Scientif. intern. du tabac, Paris, **2**, 602.

Darby, J. F., R. H. Larson and J. C. Walker, 1951: Variation in virulence and properties of potato virus Y strains. Univ. Wisconsin, Res. Bull. **177**, 1—30.

Klinkowski, M., und K. Schmelzer, 1957: Beiträge zur Kenntnis des Virus der Tabak-Rippenbräune. Phytopath. Z. **28**, 285—306.

Köhler, E., 1955: Weitere Beiträge zur Kenntnis des Y-Virus der Kartoffel. Phytopath. Z. **23**, 328—334.

Kovachevsky, I. C., 1950: Kartofenata Y — virosa po tjutjuna. Mitt. Biol. Inst. d. Bulg. Akad. d. Wiss. **123** (bulg.).

Munro, J., 1955: The reactions of certain *solanaceous* species to strains of potato virus Y. Canad. J. Bot. **33**, 355—361.

Nobrega, N. R., y K. Silberschmidt, 1941: Estudo sôbre o estado sanitário de algumas variedades de batatinhas peruanas. O Biológico **7**, 243—248.

— —, y — —, 1944: Sôbre uma provavel variante do virus „Y" da batatinha (*Solanum* virus 2, Orton) que tem a peculiaridade de provocar necroses em plantas de fumo. Arquiv. do Inst. Biol. **15**, 307—330.

Orlando, A., y K. Silberschmidt, 1945: Estudos sôbre a transmissão da doença de virus de *Solanáceas* „Necrose das Nervuras", por afidios e algumas relações entre esse virus e o seu principal inseto vetor. Arq. Inst. Biol. São Paulo **16**, 133.

Rudorf, W., und H. Ross, 1958: Über den Einbruch der Tabakrippenbräunestämme des Y-Virus in den Kartoffelbau. Hann. Land- u. Forstw. Ztg. **111**, 1073—1075.

Silberschmidt, K., 1958: Prämunitätsversuche mit verschiedenen Stämmen des Kartoffel-Y-Virus (einschließlich des Erregers der Tabakrippenbräune). IV. Internat. Pflanzenschutzkongreß 1957. Mitt. d. Biol. Bundesanst. Berlin-Dahlem, Heft **94**.

— —, E. Rostom and C. Mattos Ulson, 1954: A strain of potato-virus Y inducing local and systemic necrotic spots on leaves of tobacco White Burley. Am. Pot. J. **31**, 213—217.

Smith, K. M., and R. W. G. Dennis, 1940: Some notes on a suspected variant of *Solanum* virus 2 (Potato virus Y). Ann. Appl. Biol. **27**, 65—70.

Aus der Biologischen Bundesanstalt,
Institut für gärtnerische Virusforschung, Berlin-Dahlem

Neue Überträger für das Enationen-Virus der Erbse (pea enation mosaic) und einige andere Virosen

Von

K. Heinze

Auf der Suche nach neuen Überträgern für pflanzliche Virosen wurden neben gelungenen Übertragungen von nicht persistenten Viren durch bisher nicht bekannte Überträgerarten auch in zwei Fällen Viren übertragen, die zum persistenten Typ gehören, bei denen also das Insekt Dauerüberträger ist. Der eine Fall betrifft die Gelbe Verzwergung des Getreides (barley or cereal yellow dwarf, red leaf of oats), die in mehreren Staaten der USA verbreitet ist und die vor einiger Zeit auch in Europa auftrat und jetzt in Deutschland nachgewiesen werden konnte (Rademacher und Schwarz 1958). Der andere Fall bezieht sich auf einen neuen Überträger für das Enationen-Virus der Erbse (pea enation mosaic). Da meistens nur ganz wenige Arten imstande sind, ein persistentes Virus zu übertragen, kommt dem Nachweis neuer Überträger für ein persistentes Virus erhöhte Bedeutung zu.

Das Enationen-Virus der Erbse konnte durch die Gurkenblattlaus [*Cerosipha gossypii* (Glov.)] nach einer Saugzeit von einem Tage aus viruskranken Feldbohnenpflanzen (*Vicia faba*) aufgenommen und anschließend auf 2 von 10 Inkarnatkleepflanzen (*Trifolium incarnatum*), die als Testpflanzen dienten, übertragen werden. Der Infektionserfolg ist nicht sehr günstig, er erreicht bei weitem nicht die Höhe, wie er mit *Acyrthosiphon onobrychis* (B. d. F.) erzielt wurde. In Versuchen mit dieser Art konnten bis zu 100 % der Pflanzen infiziert werden (Heinze 1957).

Bei den Versuchen mit dem Virus der Gelben Verzwergung des Getreides handelte es sich mehr um Vorversuche, die bezweckten, eine Dahlemer Herkunft dieses Virus über den Winter zu halten. Die Übertragung gelang zunächst mit einem Gemisch von Blattläusen, das die Arten *Rhopalosiphon padi* (L.), *Metopolophium dirhodum* (Walk.) und *Sitobium granarium* (Kirby) enthielt. Es waren 11 Töpfe mit Hafer und Gerste bepflanzt und mit infektiösen Blattläusen besetzt worden. Die Pflanzen von 2 Töpfen zeigten eindeutige Symptome, bei einem dritten Topf waren die Symptome unklar, so daß die Infektion nicht genügend gesichert erschien. Die Topfpflanzen litten stark unter Mehltau, was die Diagnose erschwerte. Später wurde die Übertragung mit Blattläusen wiederholt, die einer Zucht von *Rhopalosiphon padi* (L.) entstammten. Das Ausgangsmaterial zu dieser Zucht war auf *Prunus padus* gesammelt und auf Gräsern angesiedelt worden. Auch hier waren wieder Hafer- und Gerstenpflanzen zu mehreren in einem Topf angezogen und mit den infektiösen Blattläusen besetzt worden. Unter den

Pflanzen des einen Topfes waren eindeutig kranke, zwei weitere Töpfe enthielten verdächtige Pflanzen, die nicht eindeutig zu diagnostizieren waren, und die Pflanzen eines vierten Topfes wuchsen gesund heran. Das Ergebnis der Übertragungsversuche spricht dafür, daß in der Tat die viröse Gelbe Verzwergung des Getreides vorgelegen hat. Inzwischen ist auch von anderer Seite (Wit 1956, Watson und Mulligan 1957) über erfolgreiche Übertragungen dieser Virose mit *Rhopalosiphon padi* berichtet worden.

Weitere Versuche wurden mit kurzfristig übertragbaren (nicht persistenten) Viren angestellt. Das Gurkenmosaik-Virus (cucumber mosaic virus) konnte nach kurzen Saugzeiten auf der Infektionsquelle durch *Dactynotus henrichi* C. B. von Gurke auf Tabak (2 von 10 Pflanzen) und durch *Macrosiphon daphnidis* C. B. von Tabak auf Gurke (1 von 10 Pflanzen) übertragen werden. Besonders die zweite Art könnte als Überträger des Gurkenmosaik-Virus auf Seidelbast (*Daphne mezereum*) eine Rolle spielen. Die in Anlagen und Gärten stehenden Pflanzen von *D. mezereum* sind meist mit diesem Virus infiziert. Ein starker Befall von Seidelbast mit *Macrosiphon daphnidis* unter Ausbildung zahlreicher Geflügelter ist recht häufig. Dieser kann dazu beitragen, daß die Virose schnell von Pflanze zu Pflanze verbreitet wird, obwohl die Art kein sehr guter Überträger ist.

Das Wasser- und Kohlrübenmosaik (WKM) (turnip mosaic virus) konnte nach kurzer Saugzeit auf der Infektionsquelle von Wasserrübe auf Wasserrübe durch *Cerosipha helianthemi* (Ferr.) (9 von 10 Pflanzen), durch *Macrosiphon daphnidis* C. B. (7 von 10 Pflanzen) und durch *Macrosiphoniella tanacetaria* (Kalt.) (2 von 10 Pflanzen) übertragen werden. Obwohl zumindest die ersten beiden Arten als gute Überträger dieses Virus zu bezeichnen sind, dürften sie für die Ausbreitung des Virus auf Kulturpflanzen von untergeordneter Bedeutung sein, da sie nicht sehr oft Gelegenheit haben dürften, das Virus aufzunehmen. (*Cerosipha helianthemi* lebt auf *Helianthemum nummularia* und *Macrosiphon daphnidis* auf *Daphne*-Arten, *Macrosiphoniella tanacetaria* auf *Tanacetum vulgare* [ganz gelegentlich auf *Matricaria inodora*]). Nur beim gelegentlichen Besuch von Kruziferen könnten die genannten Arten vorübergehend zu Überträgern dieser Virose werden. Ich habe solche Überträger, die in keiner engeren Beziehung zur Hauptwirtspflanze oder zum Wirtspflanzenkreis der Virose stehen, als Gelegenheitsüberträger bezeichnet (Heinze 1952). Der Begriff Gelegenheitsüberträger bezieht sich also in erster Linie auf die epidemiologischen Beziehungen zwischen Virus, Überträger und Wirtspflanze und nicht auf die Überträgerqualität.

Literaturverzeichnis

Heinze, K., 1952: Virusübertragungsversuche mit Blattläusen auf Dahlien, Gurken, Zwiebeln, Wasserrüben und einigen anderen Pflanzen. Z. Pflanzenkrkh. **59**, 3—13.

— —, 1957: Weitere Versuche zur Übertragung von phytopathogenen Viren mit Blattläusen. Nachrichtenbl. dtsch. Pflanzenschutzd. (Braunschweig) **9**, 22—25.

Rademacher, B., und R. Schwarz, 1958: Rotblättrigkeit oder Blattröte des Hafers — eine Viruskrankheit (*Hordeumvirus nanescens*). Z. Pflanzenkrkh. **65**, 641—650.

Watson, M. A., and T. Mulligan, 1957: Cereal yellow dwarf virus in Great Britain. Plant Pathol. **6**, 12—14.

Wit, F., 1956: A possible virus disease in *Lolium perenne*. Euphytica **5**, 119—129.

Soeben erschien:

Genetik und Züchtung der Waldbäume

Von

Dr. ERNST ROHMEDER

Professor an der Universität München
Vorstand des Instituts für Forstsamenkunde und Pflanzenzüchtung der Bayer. Forstlichen Forschungsanstalt in München

Dr. HANS SCHÖNBACH

Leiter der Abteilung Forstpflanzenzüchtung des Instituts für Forstwissenschaften in Tharandt der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin,
Professor an der Fakultät für Forstwissenschaft in Tharandt

336 Seiten mit 163 Abbildungen. In Ganzleinen DM 38,—

Die allgemeine Vererbungslehre oder Genetik hat sich seit Beginn dieses Jahrhunderts zu einem viele andere Fachgebiete befruchtenden Wissenschaftszweig entwickelt, dessen Bedeutung für die Forstwirtschaft jedoch erst verhältnismäßig spät erkannt wurde. Die Anfänge der Forschungsrichtung Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung liegen, von einzelnen Ausnahmen abgesehen, kaum mehr als drei Jahrzehnte zurück. Trotzdem haben die in den letzten Jahren auf diesen Gebieten erzielten Ergebnisse ein solches Ausmaß angenommen und werden als so wertvoll angesehen, daß alle Länder mit geordneter Forstwirtschaft heute in mehr oder minder großem Umfang genetische Erkenntnisse im praktischen Betrieb verwerten.

Für die verhältnismäßig junge Disziplin der Forstgenetik fehlte bisher jedoch ein umfassendes Lehrbuch, das Wissenschaft und Praxis als maßgebliche und wertvolle Ausbildungs- und Arbeitsgrundlage dienen kann. Ein solches Buch ist jetzt erstmalig in deutscher Sprache erschienen: Zwei durch ihre genetischen und züchterischen Arbeiten bekannte Forscher, Prof. Dr. ERNST ROHMEDER in München und Prof. Dr. HANS SCHÖNBACH in Tharandt, haben auf der Grundlage der allgemeinen Genetik und der in den letzten Jahrzehnten in forstgenetischen Forschungsstätten, besonders auch in ihren beiden eigenen Instituten erarbeiteten Forschungsergebnisse die Gebiete der Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung zusammenfassend dargestellt. Alle Teilgebiete der Grundlagen der Forstpflanzenzüchtung — wie Vermehrungsbiologie, Vererbungsgesetze, zytologische Grundlagen, Baumrassenbildung, Populationsgenetik — werden ebenso wie die Züchtungsverfahren und Fragen der speziellen Baumartenzüchtung behandelt. Dabei sind die Erkenntnisse der allgemeinen Genetik mit den Forschungsergebnissen der jungen Forstpflanzenzüchtung zu einer Einheit verarbeitet worden.

Der gesamten Forstwirtschaft, sowohl der Wissenschaft als auch der Praxis, werden mit diesem Buch neue und zukunftsreiche Wege gewiesen.

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

Am 1. April 1959 erscheint das 1. Heft der neuen Zeitschrift

DER ERWERBSOBSTBAU

BERICHTE AUS WISSENSCHAFT UND PRAXIS

Herausgegeben von:

Prof. Dr. P.-G. DE HAAS, Technische Hochschule Hannover; Prof. Dr. F. HILKENBÄUMER, Universität Bonn; Prof. Dr. h. c. E. KEMMER, Technische Universität Berlin; Prof. Dr. G. LIEBSTER, Technische Hochschule München; Prof. Dr. E. LOEWEL, Obstbauversuchsanstalt Jork; Prof. Dr. C. F. RUDLOFF, Landw. Hochschule Hohenheim.

Die Leiter aller Obstbauinstitute der Universitäten und Hochschulen der Bundesrepublik und Westberlins sowie der Obstbauversuchsanstalt Jork haben gemeinsam diese neue repräsentative Zeitschrift des deutschen Obstbaues begründet, um den fortschrittlichen Erwerbsobstbauern im deutschen Sprachgebiet alle mit der Verbesserung der Qualität und der Rentabilität des Obstbaues zusammenhängenden Probleme näherzubringen.

Aus dem Inhalt des ersten Heftes:

E. KEMMER und W. MANTE, Über die Abgrenzung des Erwerbsobstbaues vom Selbstversorgerobstbau.

F. HILKENBÄUMER, Vergleich von Trieb- und Ertragsleistungen von Schattenmorellen in den ersten sechs Standjahren auf verschiedenen Standorten, Unterlagen, Stammbildern und bei unterschiedlicher Schnittbehandlung.

P.-G. DE HAAS, Mineralstoffversorgung und Fruchtqualität beim Apfel.

G. LIEBSTER und H. KETTNER, Versuche mit Gibberellinsäure im Obstbau.

W. FEUCHT, Zur Alternanz beim Apfel.

Referate · Buchbesprechungen · Marktberichte

Erscheinungsweise: DER ERWERBSOBSTBAU erscheint monatlich; Umfang je Heft 20 Druckseiten zuzüglich Umschlag. Format DIN A 4 — zweispaltig — Kunstdruck. Bezugspreis: Im Abonnement vierteljährlich DM 12,— zuzüglich Zustellgebühren. Einzelheft DM 5,—.

Spezialprospekt und Probenummer stellen wir auf Anforderung gern zur Verfügung.

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

Verlag: Paul Parey, Berlin SW 61, Lindenstraße 44-47, Tel. 61 44 68/69. — Herausgeber: Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2, Prof. Dr. M. Klinkowski, Aschersleben, Ermslebener Str. 52, und Prof. Dr. H. Richter, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Straße 19. Printed in Germany (West-Berlin). Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des auszugsweisen Nachdrucks und der photomechanischen Wiedergabe vorbehalten. — Erscheinungsweise: Jährlich etwa 10—12 Hefte (4 Hefte = 1 Band).